

Université de Sherbrooke

Variations journalières des propriétés optiques du phytoplancton océanique

Carina Poulin

Thèse présentée pour l'obtention du grade Philosophiae Doctor (Ph. D.) en télédétection

Août 2018

© Carina Poulin, 2018

Identification du jury

Directeur de recherche: Prof. Yannick Huot

Codirecteur: Prof. David Antoine, School of Earth and Planetary Sciences, Curtin University,
Perth, Australia

Membre du jury externe: Dr. Emmanuel Devred, Bedford Institute of Oceanography, Dartmouth,
Canada

Membre du jury interne : Prof. Jérôme Théau

Membre du jury interne : Prof. Alexandre Langlois

Résumé

Avec l'avènement de satellites géostationnaires équipés de capteurs de la couleur de l'océan et le déploiement croissant de bouées instrumentées, la résolution temporelle des observations de la couleur de l'océan est plus grande que jamais. Cela permet d'étudier des variations journalières de l'écologie et de la physiologie du phytoplancton *in situ* et par télédétection. Cette étude a pour but de caractériser les variations diurnes des propriétés optiques du phytoplancton et de variables connexes. Une expérience de laboratoire a été réalisée sur des triplicats de cultures semi-continues de quatre espèces de phytoplancton. Les propriétés d'absorption et de diffusion ainsi que des variables écophysologiques des cultures ont été mesurées toutes les deux heures sur des échantillons de chaque culture. Des augmentations journalières de la concentration cellulaire en carbone et des rapports carbone/azote et carbone/chlorophylle ont été observées. Les variations journalières de la concentration en chlorophylle ont également été quantifiées. Les coefficients d'absorption, de diffusion et d'atténuation particulaire ont montré des augmentations au cours de la journée. Des hausses journalières du coefficient de rétrodiffusion particulaire ont été observées sur des cultures pour la première fois en laboratoire. Des corrélations entre les facteurs mesurés ont aussi été étudiées. Les données recueillies lors des expériences ont ensuite été utilisées pour modéliser les propriétés optiques de particules sphériques homogènes (via la théorie de Mie) ou couvertes d'une couche externe ou hexaédrales homogènes afin, d'une part, d'aider à mieux comprendre les résultats des expériences et, d'autre part, d'étudier l'applicabilité de ces modèles aux cultures de phytoplancton. Les modèles incluant l'ajout d'une couche externe permettent d'atteindre des valeurs de rétrodiffusion comparables aux valeurs mesurées. La présence d'une couche externe a une plus grande importance que la forme des cellules pour la modélisation du coefficient de rétrodiffusion. Ces résultats indiquent que le phytoplancton pourrait être responsable d'une partie plus importante qu'admise jusqu'alors de la rétrodiffusion observée dans l'océan et de ses variations journalières, au moins dans les cas où les espèces présentes possèdent une couche externe à fort indice de réfraction comme les diatomées et les coccolithophores. Des variations observées entre les espèces montrent aussi l'importance de tenir compte des différentes communautés phytoplanctoniques lors de l'étude des propriétés optiques du phytoplancton.

Mots clés

Variations journalières, variations diurnes, propriétés optiques inhérentes, phytoplancton, rétrodiffusion, cultures en laboratoire, modèles théoriques, théorie de Mie, modèle de particules hexahédrales

Table des matières

Résumé.....	ii
Mots clés.....	iii
Table des matières.....	iv
Liste des figures	vi
Liste des tableaux.....	xi
Liste des abréviations.....	xii
Liste des symboles	xiii
Remerciements.....	xvi
Avant-propos.....	xviii
1.Introduction.....	1
1.1 Organisation du manuscrit.....	5
2.Cadre théorique.....	6
2.1 Les constituants de l'eau de mer.....	6
2.2 Classification des eaux océaniques.....	7
2.3 Propriétés optiques	8
2.3.1 Propriétés optiques inhérentes (IOPs)	8
2.3.2 Propriétés optiques apparentes (AOPs).....	11
2.3.3 Influence des constituants sur les propriétés optiques.....	11
2.4 Variations journalières des constituants de l'eau de mer.....	18
2.4.1 Variations journalières biologiques du phytoplancton.....	19
2.4.2 Variations journalières des propriétés optiques du phytoplancton.....	20
2.5 Modèles des propriétés optiques des particules.....	21

2.5.1	Forme des particules	21
2.5.2	Les indices de réfraction	23
2.5.3	Représentation de la structure interne du phytoplancton	24
2.5.4	Les distributions de tailles.....	28
2.6	Problématique.....	29
3.	Objectifs et hypothèse.....	30
3.1	Objectif général	30
3.2	Objectifs spécifiques.....	30
3.3	Hypothèse	30
4.	Méthodologie	31
4.1	Expériences de laboratoire.....	32
4.1.1	Cultures	32
4.1.2	Instrumentation	32
4.2	Modèles des propriétés optiques.....	34
5.	Résultats : Diurnal variations of the optical properties of phytoplankton in a laboratory experiment and their implication for using inherent optical properties to measure biomass	36
5.1	Article	38
6.	Résultats : Diurnal variations of the attenuation, backscattering and absorption coefficients of 4 phytoplankton species and comparison with spherical, coated spherical and hexahedral particle optical models	72
6.1	Article	74
7.	Conclusion	132
	Références hors articles	137

Liste des figures

Figure 1 : Représentation des constituants de l'eau de mer selon leur taille, entre 0.1 nm et 1 cm, extraite de Stramski et al. (2004).	7
Figure 2 : Spectres d'absorption de l'eau pure provenant de différentes études (Sogandares and Fry, 1997, Pope and Fry, 1997, Lee et al., 2015 et son incertitude) rapportées dans Lee et al. (2015).	12
Figure 3 : Spectres de diffusion de l'eau pure et de l'eau salée provenant de Zhang et al. (2009). Les lignes bleues représentent le modèle de Zhang et al. (2009), les points représentent les mesures de Morel (1968).	13
Figure 4 : Exemple d'assemblage de phytoplancton marin observé le 1 ^{er} mai 2017 à la station Martha's Vineyard Coastal Observatory illustrant la diversité de formes et de tailles du phytoplancton (Sosik et al., 2017).	14
Figure 5 : Spectres d'absorption de différentes espèces de phytoplancton, normalisés par leur maximum. D'après Bricaud <i>et al.</i> (1988), Morel <i>et al.</i> (1993), Bricaud <i>et al.</i> (1983), Bricaud et Morel (1986). Tiré de Antoine (1998).	16
Figure 6 : Indicatrices de diffusion d'eaux mers à différents endroits. D'après Hulburt (1945), Sasaki <i>et al.</i> (1960), Jerlov (1961), Jerlov (1961), Duntley (1963), Otchakovski (1965) et Morel (1973). Tiré de Antoine (1998).	17
Figure 7 : Illustration humoristique de la façon dont la physiologie cellulaire est simplifiée par des modèles. Tiré de LoversScience (2014).	25
Figure 8 : Représentation de la physiologie d'une cyanobactérie. (Kelvin13, image sous licence <i>Creative Commons</i>).	26
Figure 9 : Représentation schématique d'une cellule d' <i>Emiliana huxleyi</i> , une coccolithophore. Tiré de Westbroek (année inconnue).	27
Figure 10 : Distributions de tailles mesurées dans trois types d'eau comparées à des distributions de Junge et les spectres d'absorption de leurs constituants. Tiré de Tonizzo et al. (2011). .	28
Figure 11 : Organigramme méthodologique du projet de thèse	31

- Fig 12. Experimental setup for the optical instruments made up of a 7 L bucket, an ac-s and an ECO BB9 connected by silicone tubing and a peristaltic pump. A recirculation loop with a 0.2 μm capsule filter was used for filtration between sampling time-points. 50
- Fig. 13. Diurnal variations of the mean quantum yield of photosynthesis (F_v/F_m) and PAR (gray dashed line, $\mu\text{mol photons m}^2 \text{ s}^{-1}$) for the four species: *T. pseudonana* (yellow), *D. tertiolecta* (green), *P. tricornutum* (orange) and *E. huxleyi* (blue). The same color-coding is used throughout the paper. Spline curve fits were added as a visual aid. 53
- Fig. 14. Diurnal variations of the mean cell size distributions in the cultures, measured with the Coulter Counter, and for the times indicated. Standard deviations (error bars) were added to the 7:00 and 21:00 curves. 53
- Fig. 15. Diurnal variations of the mean and standard deviations (error bars) of a) cell diameter, b) C/Chl (g/g, solid line) and C/N (g/g, dashed line) and c) intracellular C ($\text{pg}\cdot\text{cell}^{-1}$, solid line) and Chl ($\text{pg}\cdot\text{cell}^{-1}$, dashed line). Spline curve fits were added as a visual aid. Dark bars on x axis represent the dark period of the day. Results from top to bottom are for: *T. pseudonana*, *D. tertiolecta*, *P. tricornutum* and *E. huxleyi*. 55
- Fig. 16. Diurnal variations of a) particulate absorption coefficient (a_p , m^{-1}), b) particulate scattering coefficient (b_p , m^{-1}) and, c) particulate beam attenuation coefficient (c_p , m^{-1}) at different times of the day (see legend). The standard deviations (error bars) are only displayed for 7:00 and 21:00 when available. Results from top to bottom are for: *T. pseudonana*, *D. tertiolecta*, *P. tricornutum* and *E. huxleyi*. 56
- Fig. 17. Diurnal variations of the mean a) particulate absorption coefficient, b) particulate scattering coefficient, c) particulate beam attenuation coefficient for the wavelengths indicated. The standard deviations (error bars) are only displayed for 441 and 732 nm. Results from top to bottom are for: *T. pseudonana*, *D. tertiolecta*, *P. tricornutum* and *E. huxleyi*. Spline curve fits were added as a visual aid. 57
- Fig. 18. Diurnal variations of the mean spectral a) chlorophyll-specific particulate absorption coefficient (a_p^{Chl} , $\text{m}^2 \text{ mg}^{-1}$), b) chlorophyll specific particulate beam attenuation coefficient (c_p^{Chl} , $\text{m}^2 \text{ mg}^{-1}$), c) carbon specific particulate beam attenuation coefficient (c_p^{C} , $\text{m}^2 \text{ g}^{-1}$) for the wavelengths indicated. The standard deviations (error bars) are only displayed for 441

and 732 nm when available. Results from top to bottom are for: *T. pseudonana*, *D. tertiolecta*, *P. tricornutum* and *E. huxleyi*. Spline curve fits were added as a visual aid..... 59

Fig. 19. Relationship between the carbon-specific beam attenuation coefficient (c_p^C , $m^2 g^{-1}$), and effective cell diameter (μm) for nine phytoplankton species, including the four studied in this paper (colored symbols), plus *Synechococcus* (Stramski et al., 1995) [27], *Synechocystis* (Stramski and Morel, 1990) [49], *Micromonas pusilla*, [21] (Durand et al., 2002), *Nannochloris sp.* (Durand and Olson, 1998) [25] and *Thalassiosira pseudonana* 2 (Stramski and Reynolds, 1993) [19]. For each point the mean and standard deviations (error bars) over the diel cycle is shown with an arrow indicating direction of the change for c_p^C , except for *Synechocystis* for which the mean of seven different irradiances is shown. c_p^C is at 550 nm except for *Synechocystis* (660 nm). 60

Fig. 20. Diurnal variations of the mean a) particulate absorption cross-section (σ_a , $m^2 cell^{-1}$), b) particulate scattering cross-section (σ_b , $m^2 cell^{-1}$), c) particulate attenuation cross-section (σ_c , $m^2 cell^{-1}$) for and the wavelengths indicated in the legend. The standard deviations (error bars) are only displayed for 441 and 732 nm when available. Results from top to bottom are for: *T. pseudonana*, *D. tertiolecta*, *P. tricornutum* and *E. huxleyi*. Spline curve fits were added as a visual aid. 61

Fig. 21. Diurnal variations of a) the mean particulate backscattering coefficient (b_{bp} , m^{-1}) for the wavelengths indicated and b) the mean backscattering ratio for the wavelengths available from the ECO BB9 and their nearest from the ac-s (in the legend). The standard deviations are only displayed for 440 nm and 715 nm. Results from top to bottom are for: *T. pseudonana*, *D. tertiolecta*, *P. tricornutum* and *E. huxleyi*. Spline curve fits were added as a visual aid. 63

Fig. 22. Diurnal variations of a) the mean C specific particulate backscattering coefficient (b_{bp}^C , $m^2 mg^{-1}$), b) Chl specific particulate backscattering coefficient (b_{bp}^{chl} , $m^2 mg^{-1}$) and c) particulate backscattering cross-section (σ_{bb} , $m^2 cell^{-1}$) for the wavelengths indicated. Standard deviations (error bars) are only displayed for $\lambda=507$ and 878 nm (439 and 878 nm for *E. huxleyi*). Results from top to bottom are for: *T. pseudonana*, *D. tertiolecta*, *P. tricornutum* and *E. huxleyi*. Spline curve fits were added as a visual aid..... 64

Fig. 23. Diurnal variations of the relative variation from sunrise for a) the particulate beam attenuation coefficient (Δc_p , %) coefficient b) the particulate scattering coefficient (Δb_p , %) and c) particulate backscattering coefficient (Δb_{bp} , %) for the wavelengths indicated. Standard deviations (error bars) are only displayed for 439 and 878 nm (507 and 878 nm for *P. tricornutum*). Results from top to bottom are for: *T. pseudonana*, *D. tertiolecta*, *P. tricornutum* and *E. huxleyi*. Spline curve fits were added as a visual aid. For *P. tricornutum*, Δb_{bp} was extremely noisy for most wavelengths and thus removed from the analysis. 67

Fig. 24: Diel variations of (a) the cell concentration in the IOP measurement container. (b) the real and (c) the imaginary part of the refractive indices estimated from the measurements of intracellular carbon and chlorophyll concentrations. 87

Fig. 25: Flow chart of the models. Model inputs calculated from measurements are in boxes with thin solid lines. Model inputs from literature are in dotted boxes. Models are in thick short-dashed boxes, model direct outputs are in boxes with thin dashed lines and final model IOPs outputs are boxes with thick solid line. 88

Fig. 26: Sensitivity analysis of our coated spherical particle model for b_{bp}/b_p , c_p , a_p and $\beta_p(124)$ at 651 nm at the 15:00 time point. The homogeneous sphere model with the “average” core n is represented by the filled circle on the ‘Shell n ’ row on each panel. The dashed vertical line indicates the average measurement value while the pink rectangle represents one standard deviation. 94

Fig. 27: Sensitivity analysis for the hexahedral particle model for b_{bp}/b_p , c_p and a_p and $\beta_p(124)$ at 15:00 and 651 nm. The filled circle on the ‘Core n ’ row is calculated with the core n at the value of the shell’s n (1.08 for *D. tertiolecta*, 1.1 for *T. pseudonana* and *P. tricornutum* and 1.2 for *E. huxleyi*). The dashed vertical line indicates the average measurement value while the pink rectangle represents one standard deviation. 95

Fig. 28: a) Comparison of the volume scattering functions obtained by the hexahedral (gray), homogeneous spherical (solid colored lines) and coated spherical (dashed colored lines) models for *T. pseudonana* at 15:00 with $n_{shell} = 1.1$, $r_{shell} = 0.1 \mu m$ and a population of particles smaller than a radius of $1.12 \mu m$ represented by a Junge distribution of slope 0. Angles from 1 to 20° are displayed on a logarithmic scale and those from 20 to 180° are on a linear scale. The same cell size distribution was used for all models. b) Spectra of b_{bp}/b_p

and c) spectra of b_p for the three models and measurements for the same samples and inputs.
 97

Fig. 29: Average b_{bp} spectra measured at the different times of the day and their daily average spectra for *T. pseudonana*, *D. tertiolecta*, *P. tricornutum* and *E. huxleyi*. Error bars show the standard deviations between the culture replicates. 98

Fig. 30: Diel variations of c_p , a_p , $\beta_p(124)$ and b_{bp}/b_p for the measurements (full lines) and hexahedral, homogeneous spherical and coated spherical models (dashed) for *T. pseudonana*. Inputs for the models shown are a Junge slope of 0 and an n of 1.058 for particles of a radius smaller than 1.12 μm , a r_{shell} of 0.1 μm , n_{shell} of 1.1 for the coated spherical model, a core n that varies according to carbon concentration (averaged with the shell's n for the hexahedral model). Errors bars represent the standard deviations of the measurements for the shortest and longest wavelengths shown. 100

Fig. 31: Diel variations of c_p , a_p , $\beta_p(124)$ and b_{bp}/b_p for the measurements (full lines) and hexahedral, homogeneous spherical and coated spherical models (dashed) for *D. tertiolecta*. Inputs for the models shown are a Junge slope of 0 and a n of 1.058 for particles of a radius smaller than 1.12 μm , r_{shell} of 0.1 μm , n_{shell} of 1.08 for the coated spherical model, a core n that varies according to carbon concentration (averaged with the shell's n for the hexahedral model). Errors bars represent the standard deviations of the measurements for the shortest and longest wavelengths shown. 102

Fig. 35: Diel variations the attenuation cross-section ($\sigma_{\beta p(124)}$) for the measurements (full lines) and hexahedral, homogeneous spherical and coated spherical models (dashed). Errors bars represent the standard deviations of the measurements for the shortest and longest wavelengths shown. 109

Liste des tableaux

Table 1. Description of the species chosen for the experiments. Numerical values are given as mean \pm standard deviation.	48
Table 2. Correlation coefficients (r^2) of c_p 716 (m^{-1}) and b_{bp} 715 (m^{-1}) (to avoid the effect of absorption) with cell concentration (n cell, ($Cell \cdot m^{-3}$)), carbon content ($\mu g \cdot L^{-1}$) and ($\mu g \cdot cell^{-1}$), cell diameter (μm) and Chl concentration ($\mu g \cdot L^{-1}$) and ($\mu g \cdot cell^{-1}$). (Correlation coefficients larger than 0.50 in bold.)	65
Table 3: Coefficients of determination (r^2) of $\sigma_a(715)$ ($m^2 \cdot cell^{-1}$), $\sigma_c(715)$ ($m^2 \cdot cell^{-1}$) and $\sigma_{bb}(715)$ ($m^2 \cdot cell^{-1}$) (to avoid the effect of absorption) with intracellular carbon content ($C/cell$, $\mu g \cdot cell^{-1}$), intracellular Chl concentration ($\mu g \cdot cell^{-1}$) and cell diameter (μm). Coefficients of determination larger than 0.50 are in bold font and those between 0.25 and 0.5 are underlined.....	111

Liste des abréviations

ADN	Acide désoxyribonucléique
AOPs	Propriétés optiques apparentes
ATP	Adénosine triphosphate
CDOM	Substances organiques dissoutes colorées
CO ₂	Dioxyde de carbone
FDOM	Partie du CDOM qui fluoresce la lumière
GEO-CAPE	GEostationary Coastal and Air Pollution Events
GOCI	Geostationary Ocean Color Imager
HCL	Acide chlorhydrique
IOPs	Propriétés optiques inhérentes
LED	Light emitting diode
MODIS	Moderate Resolution Imaging Spectroradiometer
NaCl	Chlorure de sodium
NADPH	Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate
PAR	Photosynthetically active radiation
POC	Carbone particulaire organique
PSD	Distribution de taille des particules
SeaWiFs	Sea-Viewing Wide Field-of-View Sensor

Liste des symboles

Symbole	Définition	Unités
a	Coefficient d'absorption	m^{-1}
a_{cm}	Coefficient d'absorption du matériel cellulaire	m^{-1}
a_p	Coefficient d'absorption particulaire	m^{-1}
a_p^{Chl}	Coefficient d'absorption spécifique à la chlorophylle	$m^2 mg^{-1}$
b	Coefficient de diffusion	m^{-1}
b_b	Coefficient de rétrodiffusion	m^{-1}
b_{bp}	Coefficient de rétrodiffusion particulaire	m^{-1}
b_{bp}/b_p	Rapport de rétrodiffusion	Sans unité
b_{bp}^C	Coefficient de rétrodiffusion particulaire relatif au carbone	$m^2 mg^{-1}$
b_{bp}^{Chl}	Coefficient de rétrodiffusion particulaire relatif à la chlorophylle	$m^2 mg^{-1}$
β ou VSF	Fonction ou indicatrice de diffusion	$m^{-1} sr^{-1}$
$\beta_p(124)$	Fonction de diffusion particulaire à 124°	$m^{-1} sr^{-1}$
b_{bp}	Coefficient de rétrodiffusion particulaire	m^{-1}
C	Concentration de carbone	pg/cell ou $\mu g/L$
c	Coefficient d'atténuation	m^{-1}
Chl	Concentration de chlorophylle	g/L ou $pg/cell$
Chl/C	Rapport chlorophylle/carbone	Sans unité
C/N	Rapport carbone/azote	Sans unité
c_p	Coefficient d'atténuation particulaire	m^{-1}

c_p^C	Coefficient d'atténuation particulaire relatif au carbone	$m^2 g^{-1}$
D	Diamètre	μm ou m
Δb_{bp}	Variation du coefficient de rétrodiffusion particulaire relative au lever du jour	%
Δb_p	Variation du coefficient de diffusion particulaire relative au lever du jour	%
Δc_p	Variation du coefficient d'atténuation particulaire relative au lever du jour	%
ΔV	Petit volume d'eau	m^3
Δr	Épaisseur du petit volume d'eau	m
E_u	Éclairement ascendant	$W m^{-2}$
E_d	Éclairement descendant	$W m^{-2}$
$f_{L,\beta}$	Dépendance de la réflectance à la distribution de luminance	Sans unité
F_o	Fluorescence initiale	RFU
F_m	Fluorescence maximale	RFU
F_v	Fluorescence variable	RFU
F_v / F_m	Rendement quantique de photosynthèse obtenu par fluorescence variable	Sans unité
L	Luminance	$m^{-2} sr^{-1}$
λ	Longueur d'onde	m
m	Indice de réfraction	Sans unité
n	Partie réelle de l'indice de réfraction	Sans unité
n'	Partie imaginaire de l'indice de réfraction	Sans unité
n_w	Index de réfraction de l'eau	Sans unité

p	Particules	-
ρ'	Paramètre d'épaisseur optique	Sans unité
Φ_a	Intensité absorbée par le volume d'eau	W nm^{-1}
Φ_i	Intensité incidente	W nm^{-1}
Φ_s	Intensité diffusée à un angle	W nm^{-1}
ψ	Angle de diffusion	
Φ_t	Intensité transmise à travers du volume sans changement de direction	W nm^{-1}
R	Réflectance	Sans unité
R_{rs}	Réflectance de télédétection	sr^{-1}
$\sigma_{\text{PSII}[630]}$	Absorption cross-section of photosystem II at 630 nm	rad
σ_a	Section efficace d'absorption	$\text{m}^2 \text{ cell}^{-1}$
σ_b	Section efficace de diffusion	$\text{m}^2 \text{ cell}^{-1}$
σ_c	Section efficace d'atténuation	$\text{m}^2 \text{ cell}^{-1}$
σ_{bb}	Section efficace de rétrodiffusion	$\text{m}^2 \text{ cell}^{-1}$
t	Temps	-
θ	Angle de diffusion	°
x	Paramètre de taille	Sans unité
χ	Constante de proportionnalité utilisée dans le calcul de b_{bp} à partir de $\beta_p(124)$	Sans unité
w	Eau de mer pure	-

Remerciements

Je remercie le comité pour le temps et l'attention accordés à cette thèse.

Je n'aurais jamais été capable de réaliser ce travail sans l'aide et le support de nombreuses personnes que je tiens à remercier ici.

La réception d'une bourse doctorale du FRQNT fut l'élément déclencheur de cette aventure et m'a permis d'avoir le courage et les fonds pour accomplir ce travail.

Ensuite, mes collègues Tara Tapics, Pascale Roy, Marieke Beaulieu et Jennifer Marie-Rose Vandennecke qui m'ont généreusement, donné de leur temps pour m'apporter une aide précieuse. Le travail de Gabriel Diab, Patrick Cliche, Dominic Bélanger et Dominique Marie a été essentiel pour réaliser mes expériences.

J'ai aussi bénéficié de la générosité de scientifiques qui nous ont prêté leurs instruments, Emmanuel Boss, Marie-Hélène Laprise et Zbigniew Kolber. Je me dois aussi de remercier Malika Kheireddine, Darius Stramski et Mike Twardowski pour leurs conseils scientifiques. Je suis aussi reconnaissante envers le groupe de recherche du projet GEO-CAPE qui m'a encouragé en m'accueillant dans leurs rencontres.

Il est important pour moi de mentionner l'impact qu'ont eu les cours de l'école d'été « Frontiers in ocean colour science » organisée par l'*International Ocean Colour Coordinating Group (IOCCG)* dans mon parcours. Il aurait été impossible pour moi de gagner une compréhension du domaine, un sentiment d'appartenance à une communauté et la confiance suffisantes pour accomplir ce travail sans avoir assisté à ces cours (Juillet 2016). Je me considère très chanceuse que ma communauté scientifique investisse dans la formation de la relève de cette façon.

Xiaodong Zhang a été un collaborateur très précieux pour sa générosité et sa patience.

Je suis reconnaissante envers mon codirecteur, David Antoine, pour le temps et les conseils accordés à ce travail.

Merci à mes collègues et amis de Time Passport, votre foi en ce projet fou et votre endurance m'ont permis d'avoir l'énergie nécessaire pour réaliser mon doctorat tout en réalisant un projet d'entreprise dont on peut être fiers.

Je remercie mes parents, mes amis et ma famille pour leur support et leur présence, malgré le fait que j'ai été beaucoup plus absente que je ne l'aurais voulu durant ce processus.

Je remercie Laika, pour son support silencieux (pas toujours) et tout le temps passé à dormir à mes pieds pendant que je travaillais sur cette thèse.

Je suis extrêmement reconnaissante envers Yannick, sans qui rien de cela n'aurait été possible. En m'acceptant comme étudiante à la maîtrise avec un projet un peu hors de tes plans. En acceptant cela encore une fois pour mon doctorat. En passant d'innombrables heures à corriger mes textes, à m'expliquer des concepts et à m'aider, malgré le temps qui se fait très rare. Merci d'avoir toujours respecté mon travail et de m'avoir permis de le partager avec d'autres scientifiques en conférence. Merci pour ta patience, car il en a fallu beaucoup pour me permettre de réaliser ce travail aujourd'hui. Merci d'avoir cru en moi.

Enfin, merci à Pierre-Philippe. Tu étais présent dans les meilleurs comme les pires moments de ce doctorat. Tu nous as généreusement permis de vivre tellement de belles aventures ensemble. Tu m'as supportée avec énormément de patience et d'amour dans les moments les plus durs, tu m'as toujours encouragée même lorsqu'il m'était très difficile de croire en moi. Je me considère très chanceuse de t'avoir à mes côtés tous les jours. Merci.

Avant-propos

Cette thèse est présentée par articles avec deux articles. Le premier, publié en janvier 2018 :

Poulin, C., Antoine, D., & Huot, Y. (2018). Diurnal variations of the optical properties of phytoplankton in a laboratory experiment and their implication for using inherent optical properties to measure biomass. *Optics Express*, 26(2), 711-729.

Avec le support de mes co-auteurs et directeurs de thèse, j'ai conçu, préparé et réalisé les travaux de laboratoire et les analyses nécessaires à la réalisation de cette publication.

Le second article présenté a été publié, en ligne, dans la revue *Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer*, en juin 2018. :

Poulin, C., Zhang, X., Yang, P., & Huot, Y. (2018). Diel variations of the attenuation, backscattering and absorption coefficients of four phytoplankton species and comparison with spherical, coated spherical and hexahedral particle optical models. *Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer*.

Avec l'aide de Yannick Huot et de Xiaodong Zhang, j'ai adapté les codes développés par Ping Yang pour la modélisation des propriétés optiques des particules pour les appliquer à mes cultures.

1.Introduction

Le phytoplancton marin est constitué d'organismes microscopiques photosynthétiques qui vivent en suspension dans l'eau. Il est d'une importance capitale, car il est responsable de près de la moitié de la production primaire de la planète (Field *et al.*, 1998). Le phytoplancton est ainsi à la base de la chaîne alimentaire océanique, sa production contrôle celle de l'écosystème entier, il influence ainsi la quantité de poisson et donc, entre autres, les pêcheries (Chassot *et al.*, 2010). De surcroît, le phytoplancton a un impact direct sur le climat par son absorption d'énergie causant un réchauffement des eaux de surface (Murtugudde *et al.*, 2002) et indirect par son action dans le cycle du carbone comme puits de CO₂ (Sabine *et al.*, 2004) et par son influence sur la formation de nuages (Toole and Siegel, 2004). Ces caractéristiques font du phytoplancton un groupe d'organismes dont le suivi est crucial.

Le phytoplancton est observable par télédétection par le biais de son influence sur les propriétés optiques de l'océan. On peut séparer les propriétés optiques apparentes (AOPs) des propriétés optiques inhérentes (IOPs) (Preisendorfer, 1976). Les IOPs sont les propriétés optiques propres à l'eau de mer et ses constituants. Elles sont indépendantes des conditions d'éclairement. Elles peuvent être mesurées en laboratoire ou sur le terrain. Les deux IOPs fondamentales sont le coefficient d'absorption (a , m⁻¹) et la fonction de diffusion (β , m⁻¹ sr⁻¹), à partir desquelles d'autres IOPs peuvent être dérivées. Par exemple, lorsqu'on intègre la fonction de diffusion sur toute la gamme de l'angle de diffusion¹, nous obtenons le coefficient de diffusion (b , m⁻¹). Lorsqu'on intègre sur les angles de diffusion plus grands que 90° on obtient le coefficient de rétrodiffusion (b_b , m⁻¹). Le coefficient d'atténuation (c , m⁻¹) est la somme de b et de a (les dépendances spectrales ne sont pas notées ici. Pour un traitement plus détaillé, voir la section 1.3 ou par exemple Mobley, 1994). Les IOPs représentent, fondamentalement, la sommation des surfaces effectives qui absorbent ou diffusent la radiation par unité de volume. En

¹L'angle de diffusion est l'angle entre la direction du rayonnement incident sur un volume dans l'eau et la direction de la radiation diffusée

supposant l'incohérence de la lumière diffusée on peut dire que ces coefficients sont additifs. On peut donc les décomposer en la somme des absorptions ou diffusions des constituants de l'eau.

Les mesures des IOPs permettent de connaître des informations sur la composition des particules, donc, en partie, les propriétés du phytoplancton. En effet, elles dépendent des propriétés de l'eau, de la composition, de la morphologie et de la concentration des particules ou des substances dissoutes (Mobley *et al.*, 2010). Les spectres d'absorption des différentes particules permettent de les séparer. Des analyses plus pointues montrent aussi que, par exemple, la dépendance spectrale du coefficient de rétrodiffusion (b_b , m^{-1}) permet d'estimer la pente moyenne de la loi de distribution de taille des particules entre 0,1 et 20 μm (Boss and Pegau, 2001). Cela a été récemment confirmé dans des eaux où les particules autres que le phytoplancton dominant (Slade and Boss, 2015, Loiselet *et al.*, 2006, Kostadinov *et al.*, 2012).

Par ailleurs, *in situ*, dans les eaux du cas 1, la concentration de carbone particulaire organique peut être estimée à partir du coefficient d'atténuation particulaire (c_p , m^{-1}) (Gordon and Morel, 1983, Gardner *et al.* 1993, Loisel and Morel, 1998, Claustre *et al.*, 1999). En effet, c_p est une mesure de l'atténuation d'un faisceau de lumière par les particules, qui contiennent généralement du carbone (les particules d'origine non organique, étant relativement rares loin des côtes). De plus, la concentration cellulaire en carbone change l'indice de réfraction des cellules (Stramski and Reynolds, 1993). Toutefois, tout comme b_{bp} , c_p est influencé par le carbone présent dans toutes les particules en plus du phytoplancton, et il faut donc faire attention à son interprétation. On a entre autres observé *in situ* que la relation entre la concentration de chlorophylle (Chl , g/L) et c_p varie selon la profondeur (Loisel and Morel, 1998) et les saisons (Gernez *et al.*, 2011) dans les eaux du cas 1. Par télédétection, b_{bp} a été utilisé comme estimation du carbone phytoplanctonique (Behrenfeld *et al.*, 2005) et cela aurait permis d'observer des variations mensuelles du rapport chlorophylle/carbone (Chl/C) (Westberry *et al.*, 2008).

Encadré no 1: Variations journalières, circadiennes ou diurnes

Le terme « variations journalières » comprend les changements qui surviennent au cours d'une même journée, tous les jours. Les « variations circadiennes » sont des variations journalières de phénomènes habituellement biologiques. Le terme « variation diurne » s'applique typiquement surtout à la période où le soleil se trouve au-dessus de l'horizon.

La photopériode, durée quotidienne d'éclairement, dicte le rythme du cycle cellulaire du phytoplancton (Vaulot *et al.*, 1995). Plusieurs études *in vitro* ont observé les cycles circadiens chez le phytoplancton, soit des oscillations d'environ 24 heures, pour la division cellulaire (Suzuki and Johnson, 2001, Bruyant *et al.*, 2005), la concentration de pigments et de carbone par cellule (Owens *et al.*, 1980, Stramski and Reynolds 1993, Jaquet *et al.*, 2001), la taille des cellules (DuRand *et al.*, 2002), la fluorescence (Bruyant *et al.*, 2005, Poulin *et al.*, 2013) et la fixation de carbone par la photosynthèse (Harding *et al.*, 1981, Bruyant *et al.*, 2005).

Les variations journalières des propriétés optiques du phytoplancton ont aussi été étudiées en laboratoire (Claustre *et al.*, 2002, Ohi *et al.*, 2002). Notamment, chez la diatomée *Thalassiosira pseudonana* (Stramski and Reynolds, 1993) et *Synechococcus* (Stramski *et al.*, 1995), on observe en général une augmentation de la concentration en carbone intracellulaire pendant le jour, causant une augmentation de la taille des cellules et de leur indice de réfraction, et une diminution de cette concentration pendant la nuit due à la respiration et à la division cellulaire (Stramski and Reynolds, 1993).

Une augmentation diurne du coefficient d'atténuation particulaire, c_p , a été observée à maintes reprises dans les océans (Cullen *et al.*, 1992, Stramska and Dickey, 1992, Gardner *et al.*, 1993, Durand and Olson, 1996, Bishop *et al.*, 1999, Claustre *et al.*, 1999, Gardner *et al.*, 1999, Behrenfeld and Boss, 2003, Claustre *et al.*, 2008). L'étude des variations journalières de c_p par Cullen *et al.* (1992) a permis de voir que les particules non phytoplanctoniques ont une contribution non négligeable dans les variations de c_p et qu'on devrait en connaître plus sur ces contributions avant d'évaluer la production primaire, soit la fixation de carbone par photosynthèse, à partir de c_p . En effet, le phytoplancton contribue à moins de 20 % du carbone particulaire organique (POC) dans l'océan (Claustre *et al.*, 1999), mais il a une part significative dans les variations journalières du POC (Claustre *et al.*, 2008). Grâce à des mesures à haute fréquence couvrant plusieurs années et donc des régimes trophiques différents, la bouée BOUSSOLE (Antoine *et al.*, 2006) a permis de voir, entre autres, que les variations circadiennes des propriétés optiques du phytoplancton diffèrent selon les saisons (Gernez *et al.*, 2011, Kheirredine and Antoine, 2014). Il faut noter que dans les eaux du cas 1, l'atténuation

particulaire (c_p , en particulier dans le rouge où la plupart des études ont été réalisées) est dominée par la diffusion (Loisel and Morel, 1998).

Le satellite GOCI, lancé en 2010, est le premier capteur de couleur de l'océan à être placé en orbite géostationnaire, permettant une résolution temporelle inégalée de 1 à 2 heures (Choi *et al.*, 2012). Des projets de satellites géostationnaires sont aussi à l'étude en Europe et en Amérique du Nord. La disponibilité de données de télédétection de la couleur de l'eau à haute résolution temporelle permettra donc de faire l'étude à grande échelle des cycles circadiens des particules.

Pour comprendre ou interpréter les variations observées de la diffusion dans l'océan par télédétection, on doit souvent faire appel à des modèles. La théorie de diffusion de Mie est de loin la plus utilisée pour ce faire. C'est un modèle des propriétés optiques valable pour des particules homogènes et sphériques, définies par leur indice de réfraction complexe et leur distribution de taille (Mobley *et al.*, 2010). Plusieurs études ont conclu que ce modèle sous-estime le coefficient de rétrodiffusion du phytoplancton (Kitchen and Zaneveld, 1992, Quirantes and Bernard, 2004, Gibson *et al.*, 2007). L'addition d'une couche externe dans le modèle, pour représenter la membrane cellulaire, résulte en une augmentation du coefficient de rétrodiffusion. Il existe cependant encore beaucoup d'incertitude sur la représentativité de ces modèles (Meyer, 1979, Kitchen and Zaneveld, 1992). Un modèle complètement différent, basé sur des particules hexaédrales (Bi *et al.*, 2010), a montré des résultats prometteurs dans la modélisation des particules d'aérosols et de particules océaniques (Zhang *et al.*, 2013, Zhang and Gray, 2015, Xu *et al.*, 2017). L'étude des propriétés optiques de cultures de phytoplancton et la modélisation de celles-ci pourraient potentiellement apporter des informations importantes pour mieux comprendre les facteurs influençant les propriétés optiques du phytoplancton dans le milieu naturel (océanique).

En effet, il reste à confirmer que le phytoplancton est responsable des variations journalières des propriétés optiques qui sont observées en mer et, si c'est le cas, il faut déterminer quelles propriétés du phytoplancton (indice de réfraction, distribution de taille, morphologie) influenceraient plus particulièrement l'atténuation ou la rétrodiffusion ou les deux en même temps.

Dans l'objectif d'observer et comprendre les liens entre les variations journalières des propriétés optiques du phytoplancton et leur écophysiologie, nous avons réalisé une étude en deux étapes principales, soit : une série d'expériences de laboratoire et une étude des modèles reproduisant les propriétés optiques. Chacune de ces étapes fait l'objet d'un article présenté dans cette thèse.

Lors des expériences de laboratoire, nous avons cultivé des triplicats de quatre espèces de phytoplancton en les diluant chaque jour et nous avons mesuré certaines de leurs propriétés optiques inhérentes, leur concentration en carbone, chlorophylle et azote ainsi que leurs distributions de tailles toutes les deux heures durant une journée. Cette étude nous a permis d'observer les variations journalières de ces facteurs dans des conditions que nous contrôlions.

Nous avons ensuite étudié des modèles de particules sphériques homogènes ou couverte d'une couche externe, ainsi que des particules hexaédrales homogènes. Nous avons effectué une analyse de sensibilité avec des valeurs réalistes des principaux paramètres des modèles afin de déterminer ceux qui influencent le plus les résultats pour les différentes propriétés optiques inhérentes que nous avons mesurées lors de nos expériences de laboratoire. Nous avons aussi utilisé les résultats de nos mesures de carbone, de chlorophylle, d'absorption et de distributions de tailles des cellules afin de tenter de reproduire les variations journalières observées des propriétés optiques avec les modèles. Cela nous a permis de mieux comprendre les facteurs influençant les variations journalières des propriétés optiques observées en laboratoire ainsi que l'applicabilité des différents modèles étudiés aux espèces de phytoplancton présentes dans notre étude.

1.1 Organisation du manuscrit

Le manuscrit de cette thèse présente le cadre théorique de l'étude dans un premier chapitre. Celui-ci comprendra les propriétés optiques utiles à cette étude, les variations journalières des processus liés à l'écophysiologie et aux propriétés optiques du phytoplancton et les modèles théoriques de propriétés optiques pertinents. Le second chapitre expose les objectifs et hypothèses de l'étude. Le troisième expose la méthodologie. Une synthèse des résultats est ensuite présentée au chapitre quatre. Par la suite, le cheminement et les résultats de nos expériences de laboratoire sont présentés sous la forme de l'article scientifique publié dans la

revue *Optics Express* en janvier 2018. Notre étude des modèles de propriétés optiques est présentée sous la forme de l'article soumis à la revue *Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer* en avril 2018 dans le sixième chapitre. Le septième et dernier chapitre conclut la thèse.

2. Cadre théorique

Le présent chapitre couvre les notions théoriques nécessaires à la compréhension du sujet de recherche. Il comprend des informations sur les constituants de l'eau de mer, les propriétés optiques des constituants de l'eau de mer et sur les modèles utilisés pour les étudier.

2.1 Les constituants de l'eau de mer

Les principaux constituants qui affectent les propriétés optiques de l'océan sont l'eau de mer elle-même et les substances inorganiques qui y sont dissoutes, les substances organiques dissoutes colorées (CDOM), le phytoplancton, les particules nonphytoplanctoniques organiques (souvent appelées détritiques ou tripton), les particules inorganiques et les bulles (Fig. 1). La distinction entre les substances dissoutes et les particules est souvent définie par la taille des filtres utilisés pour les séparer (0.2 μm par exemple).

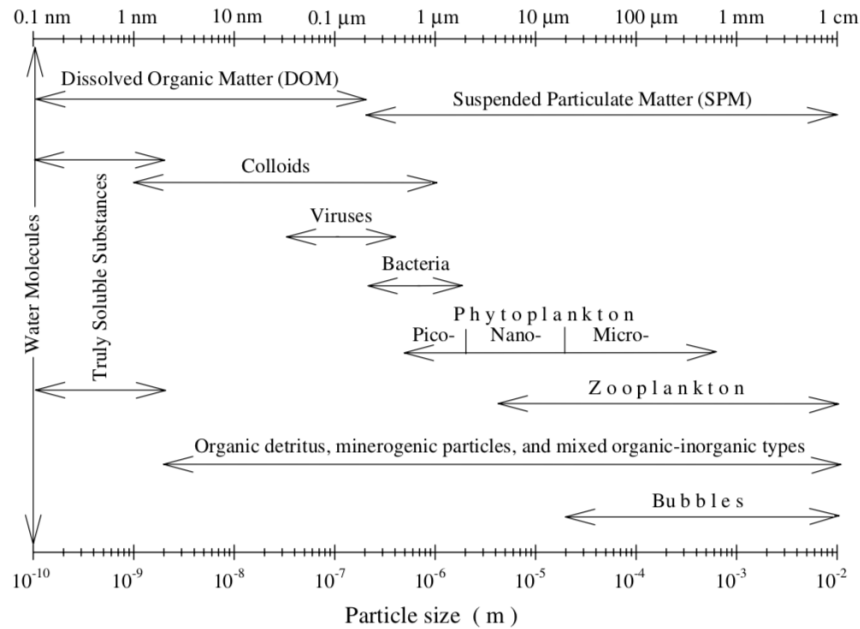


Fig. 1. Schematic diagram showing various seawater constituents in the broad size range from molecular size of the order of 10^{-10} m to large particles and bubbles of the order of 10^{-3} – 10^{-2} m in size. The arrow ends generally indicate approximate rather than sharp boundaries for different constituent categories.

Figure 1 : Représentation des constituants de l’eau de mer selon leur taille, entre 0.1 nm et 1 cm, extraite de Stramski et al.(2004).

2.2 Classification des eaux océaniques

Morel et Prieur (1977) ont classifié les eaux océaniques en deux « cas » selon leurs constituants et la manière dont ceux-ci sont reliés aux propriétés optiques. On parle des eaux de cas 1 et 2. Les eaux du cas 1, représentant 95% des océans, sont les eaux situées typiquement loin des côtes (mais pas exclusivement), où le phytoplancton et les constituants qui lui sont associés sont les principaux facteurs influençant la couleur de l’eau. Dans ces eaux, les propriétés optiques covariant généralement avec le phytoplancton (ou au moins avec la concentration en chlorophylle, utilisée comme proxy de l’abondance du phytoplancton). Les eaux du cas 2 sont situées près des terres et leur couleur est marquée par les particules en suspension et des matières dissoutes provenant en grande partie du contenu des eaux douces qui s’y déversent. Dans ces eaux, les propriétés optiques ne covariant généralement pas avec le phytoplancton qui, en outre, représente souvent dans ce cas une faible contribution à l’absorption ou à la diffusion.

L'observation du phytoplancton dans les eaux du cas 2 par télédétection est donc beaucoup plus difficile.

Bien que les résultats de cette thèse soient applicables aux deux cas, dans une perspective de télédétection, il est fort probable que l'observation des variations journalières du phytoplancton ne soit possible que dans les eaux du cas 1. L'emphase de la thèse est ainsi placée sur ces eaux.

2.3 Propriétés optiques

Les propriétés optiques de l'eau de mer nous permettent d'en connaître plus sur ses constituants par télédétection. Elles sont regroupées en propriétés optiques inhérentes et apparentes (Preisendorfer, 1961). Les notions présentées dans les prochaines sections sont détaillées dans Mobley (2010).

2.3.1 Propriétés optiques inhérentes (IOPs)

La lumière qui interagit avec un milieu peut être soit absorbée ou diffusée. L'absorption est la transformation de l'énergie des photons en énergie interne dans un atome ou une molécule ou en chaleur. Lorsque les photons changent de direction ou d'énergie par interaction avec des particules, on parle de diffusion. L'absorption et la diffusion du milieu sont décrites par les propriétés optiques inhérentes (IOPs). Les propriétés optiques inhérentes de l'eau de mer sont indépendantes des conditions lumineuses et dépendent exclusivement de la composition du milieu. Elles peuvent être étudiées en laboratoire. Le coefficient d'absorption et l'indicateur de diffusion sont les IOPs fondamentales à partir desquelles on peut dériver d'autres IOPs.

L'absorption de la lumière par le milieu, qui dépend de la longueur d'onde (λ , m), est décrite par le coefficient d'absorption ($a(\lambda)$, m^{-1}). Il représente la fraction de la lumière qui est absorbée par unité de distance parcourue dans le milieu. De la même façon, on décrit le coefficient de diffusion ($b(\lambda)$, m^{-1}) comme la fraction de lumière diffusée par unité de distance.

En considérant un petit volume d'eau (ΔV , m^3) d'épaisseur Δr (m) illuminé par un faisceau de lumière monochromatique d'une longueur d'onde (λ , m) et d'intensité $\Phi_i(\lambda)$ ($W\ m^{-2}$), une partie de l'intensité incidente est absorbée par le volume d'eau ($\Phi_a(\lambda)$) et une autre diffusée à un angle

$\psi(\Phi_s(\lambda, \psi))$ et le reste est transmis à travers du volume sans changement de direction ($\Phi_t(\lambda)$). L'intensité diffusée dans toutes les directions peut être représentée par $\Phi_s(\lambda)$. On suppose ici qu'il n'y a pas de changement de longueur d'onde par diffusion. L'énergie est donc conservée et :

$$\Phi_i(\lambda) = \Phi_a(\lambda) + \Phi_s(\lambda) + \Phi_t(\lambda). \quad (1)$$

Le coefficient d'absorption est défini par :

$$a(\lambda) = \frac{\Phi_a(\lambda)/\Phi_i(\lambda)}{\Delta r} \quad (2)$$

et le coefficient de diffusion par :

$$b(\lambda) = \frac{\Phi_b(\lambda)/\Phi_i(\lambda)}{\Delta r} \quad (3)$$

Le coefficient d'atténuation ($c(\lambda)$, m^{-1}) est la somme de $a(\lambda)$ et $deb(\lambda)$ et représente donc la somme de l'énergie « perdue » dans le faisceau incident en traversant le milieu. Ces propriétés sont additives, il est donc possible, par exemple, de séparer l'apport des différents constituants de l'eau de mer pour obtenir :

$$a(\lambda) = a_p(\lambda) + a_{CDOM}(\lambda) + a_w(\lambda) \quad (4)$$

ou

$$b(\lambda) = b_p(\lambda) + b_w(\lambda) \quad (5)$$

Où l'index w représente l'eau de mer pure, p les particules et $CDOM$ la matière dissoute. (Preisendorfer, 1961). Le CDOM est généralement supposé comme non-diffusant.

L'indicatrice de diffusion est la fonction décrivant la diffusion angulaire de la lumière dans le milieu. En supposant un milieu isotrope, dont l'influence sur la lumière ne change pas d'un angle à l'autre à n'importe quel point dans le milieu, et que la lumière n'est pas polarisée, on peut considérer que la diffusion de la lumière possède une symétrie azimutale et que la diffusion dépend alors seulement de l'angle de diffusion. La fraction de la lumière qui est diffusée par stéradian, par longueur d'onde et par unité de distance peut être représentée par l'indicatrice de diffusion ($\beta(\text{angle}, \lambda)$ ou VSF, $\text{m}^{-1}\text{sr}^{-1}$). L'intégrale de β sur tous les angles de diffusion donne $b(\lambda)$. L'intégrale de β sur les angles de diffusion entre 0 et $\pi/2$ est le coefficient de diffusion avant ($b_f(\lambda)$, m^{-1}) et l'intégrale de β sur les angles de diffusion entre $\pi/2$ et π est le coefficient de rétrodiffusion ($b_b(\lambda)$, m^{-1}).

$$b(\lambda) = 2\pi \int_0^\pi \beta(\theta, \lambda) \sin(\theta) d\theta \quad (6)$$

$$b_f(\lambda) = 2\pi \int_0^{\pi/2} \beta(\theta, \lambda) \sin(\theta) d\theta \quad (7)$$

$$b_b(\lambda) = 2\pi \int_{\pi/2}^\pi \beta(\theta, \lambda) \sin(\theta) d\theta \quad (8)$$

L'équation du transfert radiatif permet de faire le lien entre les propriétés optiques inhérentes et la luminance, qui est une quantité radiométrique. À partir de la luminance, on peut dériver les propriétés optiques apparentes.

2.3.2 Propriétés optiques apparentes (AOPs)

Les propriétés optiques apparentes (AOPs) sont dépendantes du milieu, donc des IOPs, mais également des conditions d'éclairement. Ces conditions comprennent, par exemple, la structure directionnelle de l'éclairement, l'angle du soleil par rapport à la surface ou l'état de la mer. Il existe plusieurs propriétés optiques apparentes, une des plus importantes pour l'observation de l'océan est la réflectance. La réflectance ($R(\lambda)$, sans unités), est une des propriétés optiques apparentes. Il s'agit du rapport de l'éclairement ascendant juste sous la surface de l'eau ($E_u(\lambda)$, $W m^{-2}$) sur l'éclairement descendant à cette même profondeur, en général notée « 0⁻ » ($E_d(\lambda)$, $W m^{-2}$). La réflectance est donc exprimée par

$$R(\lambda) = \frac{E_u(0^-, \lambda)}{E_d(0^-, \lambda)} = f_{L,\beta} \frac{b_b(\lambda)}{a(\lambda)} \quad (9)$$

où la fonction $f_{L,\beta}$ (sans unités) exprime la dépendance de la réflectance à la distribution des luminances marines (L , $W m^{-2} sr^{-1}$) et aux IOPs (Morel et al., 2002). C'est la dépendance de la réflectance envers les IOPs qui permet d'étudier le phytoplancton par télédétection. C'est la réflectance de télédétection (R_{rs} , sr^{-1}) qui est alors dérivée. C'est le rapport de la luminance sortant de l'eau dans la direction θ, ϕ ($L_w(\theta, \phi, \lambda)$) sur l'éclairement descendant ($E_d(0^+, \lambda)$), tous deux juste au-dessus de la surface de l'eau (« 0⁺ »).

$$R_{rs}(\theta, \phi, \lambda) = \frac{L_w(\theta, \phi, \lambda)}{E_d(0^+, \lambda)} \quad (10)$$

2.3.3 Influence des constituants sur les propriétés optiques

Les constituants de l'eau de mer influencent ses propriétés optiques dans les longueurs d'onde du visible de différentes façons, ce qui permet de les identifier.

L'eau

En optique, une substance pure est exempte de particules en suspension. Elle n'est pas nécessairement pure au sens chimique. C'est le cas de l'eau de mer pure, qui contient des sels dissous (Morel, 1974), et absorbe et diffuse la lumière. Son absorption dépend de sa température et de sa salinité. L'eau de mer pure absorbe plus dans la région rouge du spectre visible (Fig. 2) (Tam and Patel, 1979, Smith and Baker, 1981, Buiteveld et al., 1994, Sogandares and Fry, 1997, Pope and Fry, 1997, Lee et al., 2015).

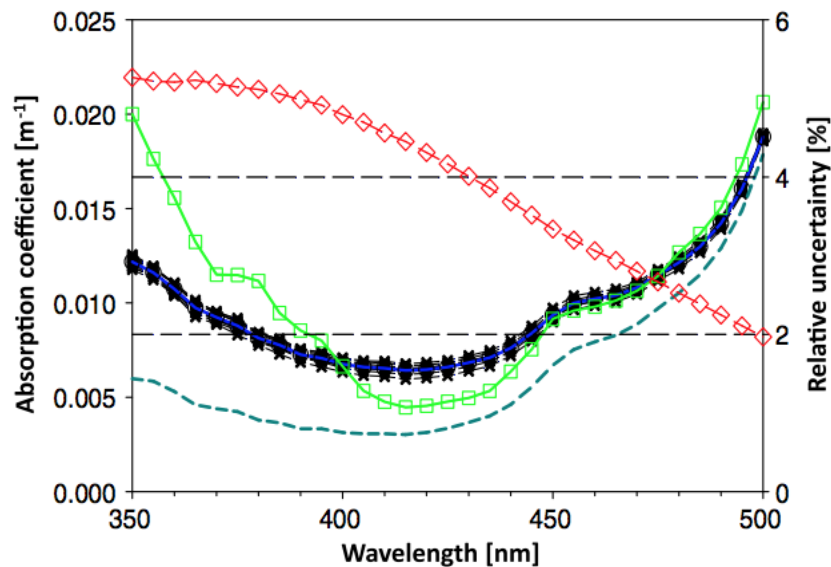


Figure 2 : Spectres d'absorption de l'eau pure provenant de différentes études (Sogandares and Fry, 1997, Pope and Fry, 1997, Lee et al., 2015 et son incertitude) rapportées dans Lee et al. (2015).

La diffusion de l'eau dépend de la salinité (pouvant varier de 30% dans les différentes conditions retrouvées dans l'océan) et, dans une moindre mesure, de la température. Comme c'est une diffusion moléculaire, le spectre visible de la diffusion de l'eau pure est plus fort dans le bleu (Fig. 3).

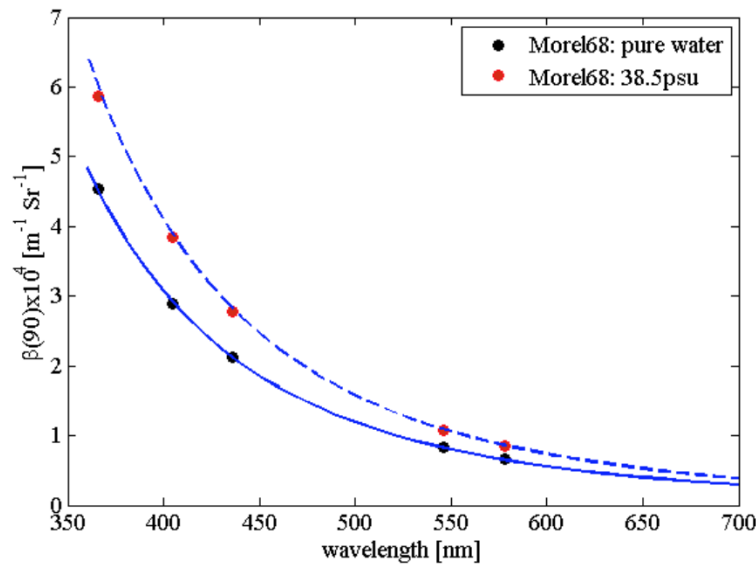


Figure 3 : Spectres de diffusion de l'eau pure et de l'eau salée provenant de Zhang et al. (2009).

Les lignes bleues représentent le modèle de Zhang et al. (2009), les points représentent les mesures de Morel (1968).

On doit donc tenir compte de l'absorption et de la diffusion de l'eau lorsque l'on veut mesurer les propriétés optiques de ses constituants.

Les matières organiques dissoutes colorées

Les matières organiques dissoutes colorées (CDOM) absorbent fortement dans le bleu. Leur spectre d'absorption peut être représenté par une fonction exponentielle décroissante. Elles sont considérées comme étant dissoutes, car elles restent dans l'eau après une filtration sur 0.2 μm . Des substances inorganiques dissoutes peuvent aussi absorber la lumière. Les matières inorganiques dissoutes ne fluorescent pas, contrairement au CDOM. On peut retrouver du CDOM dans les cultures, produit par le phytoplancton et certaines bactéries qui dégradent le CDOM produit par le phytoplancton (Castillo et al., 2010, Romera-Castillo et al., 2011).

L'apport des matières dissoutes à la diffusion est incertain. Les colloïdes, qui font partie des matières inorganiques dissoutes, pourraient diffuser la lumière et avoir une influence sur la rétrodiffusion (Stramski and Wozniak, 2005), mais il manque toujours des observations prouvant cette contribution.

Une partie du CDOM fluoresce et est alors appelée FDOM. Cette fluorescence est utilisée pour quantifier le CDOM *in situ*.

Le phytoplancton

Le phytoplancton est un groupe d'organismes très diversifiés notamment en forme (Fig. 4), pigmentation, taille, et taxonomie. Toutes les espèces ont comme caractéristiques communes de faire de la photosynthèse, d'être en suspension dans l'eau et de ne pas pouvoir résister au courant. Le phytoplancton influence les propriétés optiques de l'eau de mer. La diversité taxonomique (génétique) est beaucoup plus grande que celle observée chez les plantes terrestres (p. ex. : Falkowski and Raven, 2007).

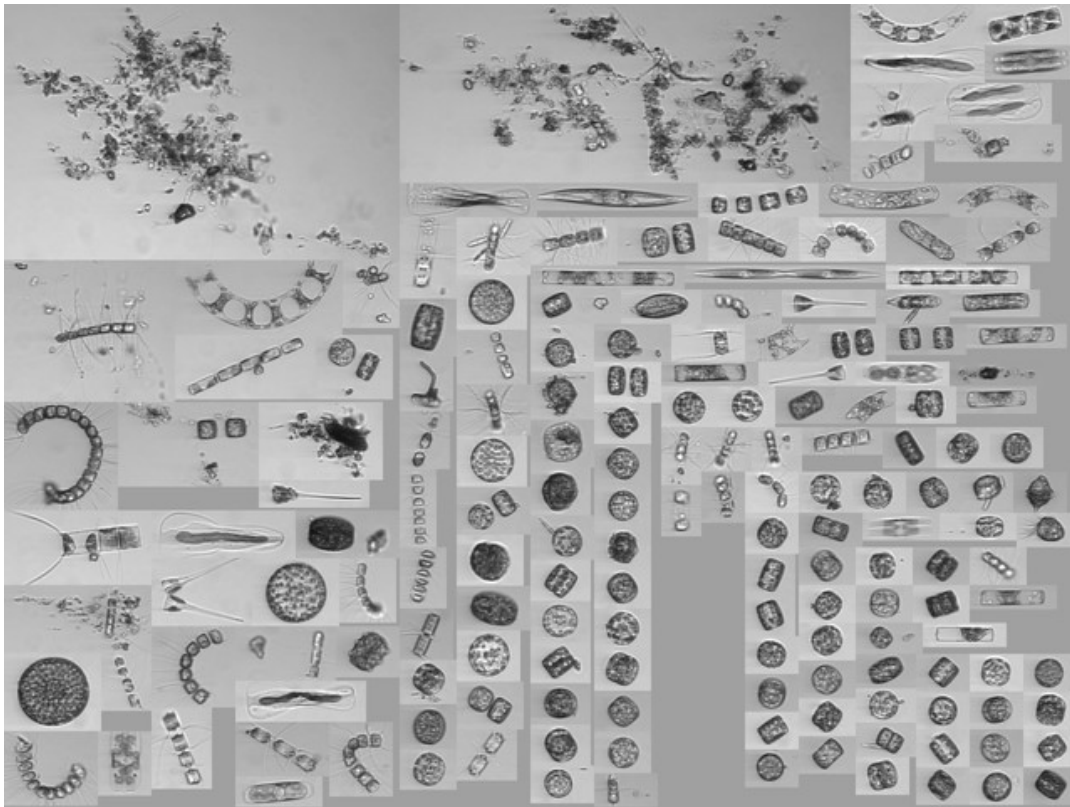


Figure 4 : Exemple d'assemblage de phytoplancton marin observé le 1^{er} mai 2017 à la station Martha's Vineyard Coastal Observatory illustrant la diversité de formes et de tailles du phytoplancton (Sosik et al., 2017).

Voici quelques groupes importants qui font partie du phytoplancton marin:

-*Les cyanobactéries* : Les cyanobactéries sont des procaryotes capables de photosynthèse. Elles regroupent les espèces les plus abondantes et les plus petites du phytoplancton marin. Elles sont présentes dans l'océan et dominent la biomasse phytoplanctonique dans les eaux les plus faibles en nutriments.

-*Les diatomées* : Les diatomées sont des algues unicellulaires très diversifiées en forme et en taille qui peuvent aussi former des colonies. Elles sont typiques des eaux riches en nutriments, par exemple lors des efflorescences printanières dans l'océan, et se divisent habituellement rapidement. Elles possèdent une couche externe de siliceformée de deux valves qui s'emboîtent appelée frustule. Le nom « d'algues brunes » leur a été associé par le passé, à cause de leur couleur provenant de leur contenu en certains pigments comme la fucoxanthine et les caroténoïdes.

-*Les coccolithophores* : Les coccolithophores sont des algues unicellulaires qui se distinguent par leur couche externe composée de plaques de calcite appelées coccolithes. Ils forment des efflorescences importantes dans les eaux faibles en nutriments.

-*Les chlorophytes* : Les chlorophytes font partie des algues vertes et sont présentes dans une vaste gamme d'environnements en mer comme sur terre. Comme les plantes terrestres, elles possèdent de la chlorophylle *a* et *b* et possèdent des réserves d'amidon dans leurs cellules. Certaines espèces stockent aussi des lipides sous forme de gouttelettes dans leurs cellules.

Le phytoplancton absorbe la lumière du soleil et, via la photosynthèse, synthétise des composés organiques à partir du gaz carbonique. Le principal pigment utilisé pour absorber la lumière qui servira à la photosynthèse est la chlorophylle. Il existe 6 types de chlorophylle (*a*, *b*, *c*, *d*, *e* et *f*) ayant chacune un spectre d'absorption légèrement différent, mais elles ont toutes deux pics d'absorption principaux, un dans le bleu et un dans le rouge. Certaines cyanobactéries, notamment *Prochlorococcus*, contiennent un pigment semblable, la divinylchlorophylle *a*. Beaucoup d'autres pigments sont présents dans les cellules du phytoplancton, dépendamment de l'espèce, et ont une influence sur leur spectre d'absorption (Fig. 5). Par ailleurs, des augmentations de la concentration de pigments à l'intérieur des cellules et de leur taille peuvent avoir pour effet d'aplatir le spectre d'absorption (Bricaud et al., 1995, Ciotti et al., 2002).

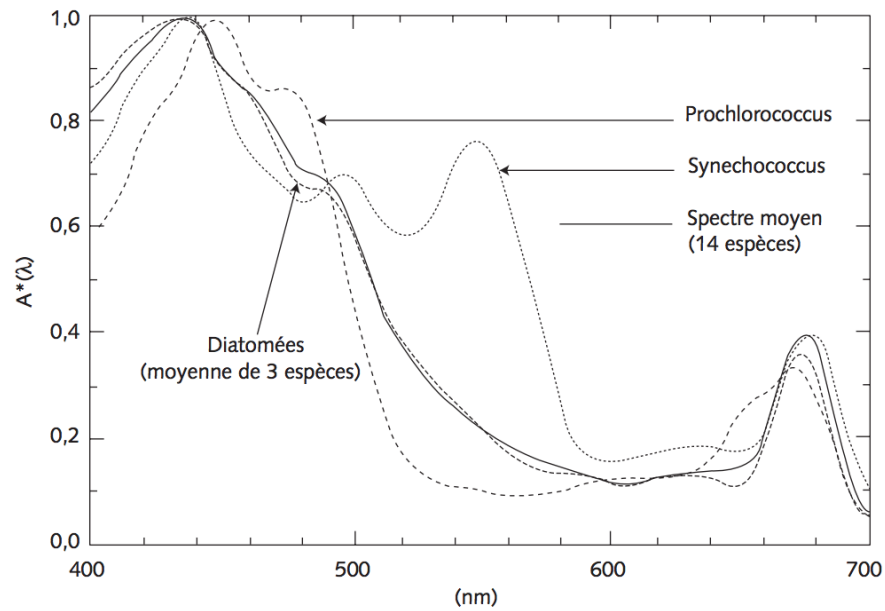


Figure 5 : Spectres d'absorption de différentes espèces de phytoplancton, normalisés par leur maximum. D'après Bricaud *et al.* (1988), Morel *et al.* (1993), Bricaud *et al.* (1983), Bricaud et Morel (1986). Tiré de Antoine (1998).

La diffusion de la lumière par le phytoplancton comprend les processus de diffraction, réflexion et réfraction de la lumière. La diffusion dépend de la taille des particules ainsi que de leur indice de réfraction et de leur forme. L'indicatrice de diffusion des particules marines est toujours beaucoup plus prononcée dans les angles de 0° à 90° (avant) (Figure 6). Cette partie est plus influencée par les grosses particules par rapport à la longueur d'onde. La partie arrière de l'indicatrice de diffusion (de 90° à 180°) est plus faible et plus variable, dépendant plus des petites particules et particulièrement de leur indice de réfraction. Des modèles ont été utilisés pour représenter la diffusion, étant donné la difficulté à mesurer cette propriété optique. Ces modèles seront abordés à la section 2.5.

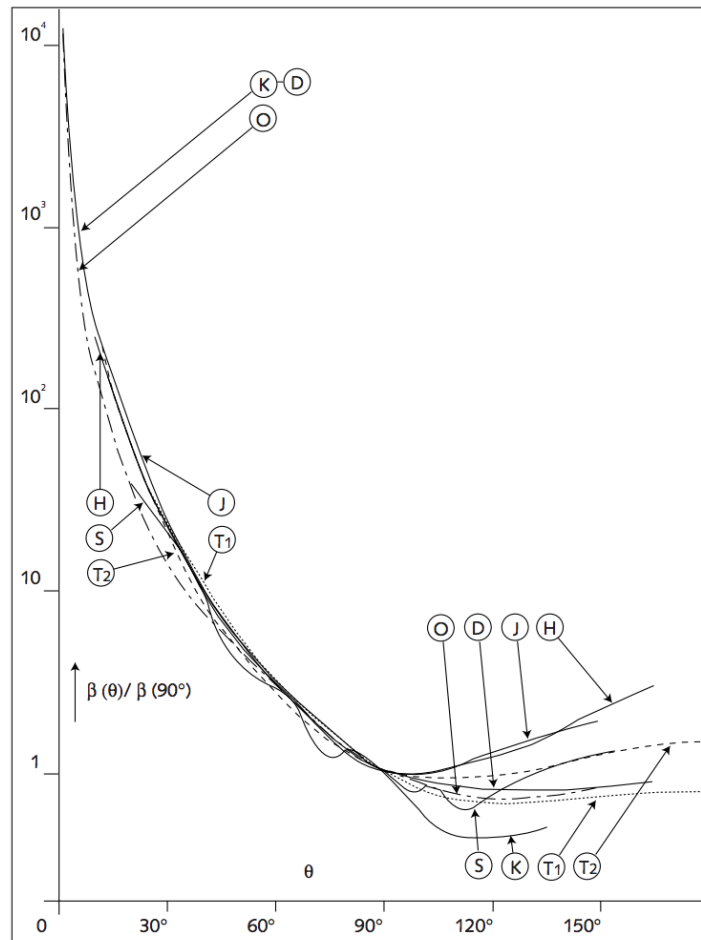


Figure 6 : Indicatrices de diffusion d'eaux mers à différents endroits. D'après Hulburt (1945), Sasaki *et al.* (1960), Jerlov (1961), Jerlov (1961), Duntley (1963), Otchakovski (1965) et Morel (1973). Tiré de Antoine (1998).

Étant donné que la diffusion est la différence entre l'atténuation et l'absorption, et que le spectre de diffusion est influencé par l'absorption, le spectre d'atténuation est généralement lisse.

Plusieurs pigments présents dans le phytoplancton fluorescent, mais la chlorophylle *a* domine la fluorescence du phytoplancton. La fluorescence dépend du type de phytoplancton, de la concentration de pigments dans les cellules, de l'adaptation à la lumière, de l'état physiologique, des nutriments et du stade de croissance du phytoplancton. La chlorophylle et le phytoplancton sont le plus souvent quantifiés par la fluorescence de la chlorophylle, malgré les variations possibles en fonction des facteurs énumérés ci-haut.

Les particules non-algales

Les particules non-algales comprennent le tripton et les particules inorganiques. Le tripton comprend les particules organiques qui ne peuvent être considérées comme du phytoplancton, il inclut entre autres les bactéries, les virus, les débris ou les parties de phytoplancton. Elles existent dans une large gamme de tailles et de composition. Leur apport respectif à la diffusion de la lumière n'est toujours pas bien compris. Par contre, leur spectre d'absorption est bien connu, il est caractérisé par un spectre exponentiellement décroissant en fonction de la longueur d'onde (Roesler et al., 1989, Babin et al., 2003).

Les bulles

Les bulles d'air diffusent la lumière (Zhang et al., 1998) et, selon les modèles, les très petites bulles ($<0.1\mu\text{m}$) ont un plus grand ratio de rétrodiffusion que les plus grandes et les plus grandes ($>10\mu\text{m}$) diffusent autant vers l'avant que l'arrière. Il n'est toutefois pas encore possible de mesurer des bulles d'une taille inférieure à $10\mu\text{m}$ à cause de la technologie utilisée. Peu d'information existe sur l'absorption des bulles qui serait vraisemblablement négligeable. On sait toutefois qu'elles ont pour effet d'augmenter la réflectance et de changer son spectre.

2.4 Variations journalières des constituants de l'eau de mer

Les cycles journaliers de la lumière du soleil ont une grande influence sur les êtres vivants, en particulier sur le phytoplancton qui est composé d'organismes photosynthétiques qui dépendent de la lumière comme source d'énergie.

Outre la photosynthèse, d'autres processus biologiques du phytoplancton subissent des variations journalières. La croissance, la division, la fluorescence, la pigmentation et la concentration de carbone par cellule. Ces variations journalières biologiques ont été étudiées dans le milieu naturel, ainsi qu'en laboratoire. Les effets de ces variations biologiques sur les propriétés optiques ont aussi été étudiés.

2.4.1 Variations journalières biologiques du phytoplancton

La photosynthèse est le processus par lequel des organismes utilisent le CO₂ et l'eau pour former des glucides, comme réserve d'énergie, en utilisant l'énergie provenant de la lumière. Le processus crée aussi de l'eau et de l'oxygène. La photosynthèse se fait en deux phases dont l'une est dépendante de la lumière et l'autre indépendante de la lumière. Lors de la phase dépendante de la lumière, un photon sera absorbé et libérera un électron à partir de molécules d'eau qui ira dans la chaîne de transport des électrons et aura pour effet de créer de l'ATP (adénosine triphosphate) et de la NADPH (Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate) et de l'oxygène (Arnon et al., 1954). Le NADPH sera ensuite utilisé dans la phase indépendante de la lumière pour fixer le carbone du CO₂ sous forme de glucides comme réserve d'énergie. La respiration, le processus d'utilisation des réserves d'énergie nécessitant de l'oxygène et produisant du CO₂ et de l'eau, est aussi un processus qui a lieu de jour comme de nuit, malgré le fait qu'elle ne nécessite pas de lumière (Grande et al., 1989a et 1989b, Langdon et al. 1993, Pringault et al., 2007). Les paramètres photosynthétiques, comme l'efficacité photosynthétique du phytoplancton varient aussi selon l'heure du jour (Harding et al., 1981, Cullen et al., 1992, Bruyant et al., 2005), tout comme la fluorescence, qui peut donner de l'information les différentes parties de l'appareil photosynthétique (Owens et al., 1980, Bruyant et al., 2005, Poulin et al., 2013, Chen and Gao, 2004).

La concentration de carbone par cellule augmente habituellement le jour à cause de la fixation du carbone (Owens *et al.*, 1980, Stramski and Reynolds 1993, Jaquet *et al.*, 2001). Le rapport carbone sur azote dans les cellules varie pour certaines espèces et reste stable pour d'autres (voir Lopez et al., 2016). Dans l'océan, le phytoplancton contribue à moins de 20 % du carbone particulaire organique (POC) (Claustre *et al.*, 1999), mais il a une part significative dans les variations journalières du POC (Claustre *et al.*, 2008). Par ailleurs, la concentration de chlorophylle montre aussi des variations journalières chez le phytoplancton (Owens et al., 1980, Poulin et al., 2013, Stramski and Reynolds 1993, Jaquet *et al.*, 2001).

Le rythme du cycle cellulaire du phytoplancton est dicté par la photopériode (Vaulot et al., 1995). Il a été observé en laboratoire que la division cellulaire suit des cycles circadiens (Suzuki and Johnson, 2001, Bruyant et al., 2005). Jaquet et al. (2001) ont observé en laboratoire une

synchronisation de la division de plusieurs espèces de picoplancton (taille de 0.2 - 2 μm) au début de la nuit. Pour *Synechococcus* toutefois, la division peut avoir lieu à n'importe quel moment de la journée, même si la fin de la journée est plus fréquemment observée (voir Jacquet et al., 2001). Certaines diatomées se divisent durant le jour (Stramski and Reynolds, 1993) ou plus d'une fois par jour (Chisholm and Costello, 1980). L'existence d'une horloge biologique interne, qui continue d'être synchronisée un certain temps même en l'absence de cycles lumineux, a été démontrée chez le phytoplancton (Chisholm and Brand, 1981, Goto and Johnson, 1995, Brunelle et al., 2007).

Les cycles journaliers de la division cellulaire, avec leurs différences d'heure de division entre les espèces, ont aussi été observés dans le milieu naturel à plusieurs endroits (Vaulot and Marie, 1999, Durand and Olson, 1996, Binder and Durand, 2002, Litaker et al., 2002, Hunter-Cervera et al., 2014).

Les variations journalières des cycles cellulaires entraînent nécessairement des cycles dans la taille des cellules, qui grossissent jusqu'à la division (Stramski and Reynolds, 1993, Durand and Olson, 1996, Durand et al., 2002, Sosik et al., 2003).

2.4.2 Variations journalières des propriétés optiques du phytoplancton

Les variations journalières du phytoplancton ont une influence sur ses propriétés optiques. Des augmentations diurnes du coefficient d'atténuation (c_p) dans l'océan ont été rapportées dans plusieurs études (Cullen et al., 1992, Stramska and Dickey, 1992, Gardner et al., 1993, Durand and Olson, 1996, Bishop et al., 1999, Claustre et al., 1999, Gardner et al., 1999, Behrenfeld and Boss, 2003, Claustre et al., 2008). Les variations journalières de c_p observées par Cullen et al. (1992) ont indiqué que les variations de c_p ne peuvent être directement attribuées à des variations dans la quantité de phytoplancton tant que les contributions relatives du plancton, des bactéries et des détritus à c_p ne seront pas bien connues. Des possibles variations journalières de c_p relatif au carbone (c_p^C , m^2g^{-1}) ont aussi été proposées dans cette étude. Durand and Olson (1996), quant à eux, ont proposé que le phytoplancton était responsable d'une grande part des variations journalières de c_p observées dans le milieu naturel, à partir de mesures en laboratoire et de modèles. Ces variations étaient aussi dépendantes des communautés de phytoplancton.

Parcontre, le phytoplancton n'est responsable que d'une partie du c_p total en mer (DuRand and Olson, 1996, Claustre et al., 1999, Grob et al., 2007). Les variations journalières de c_p montrent aussi des variations saisonnières (Gernez et al., 2011, Kheireddine et al., 2014).

Dans l'océan, Cui et al. (2013) ont observé des variations journalières du coefficient d'absorption (a_p). La diffusion totale montre aussi des variations journalières (Durand and Olson, 1996, Vaultot and Marie, 1999, Sosik et al., 2003). On observe aussi une augmentation journalière du coefficient de rétrodiffusion particulaire (b_{bp}) (Kheireddine et al., 2014, Cui et al., 2013) et des différences ont été observées entre les variations journalières de c_p et de b_{bp} (Kheireddine et al., 2014, Barnes et Antoine, 2014).

En laboratoire, on a observé des augmentations diurnes de l'absorption (a_p) (Ohi et al., 2002) moins prononcées que les augmentations de c_p et b_p (Stramski and Reynolds, 1993, Claustre et al., 2002). Une augmentation du carbone intracellulaire le jour cause une augmentation de la taille des cellules et de leur indice de réfraction et une diminution la nuit due à la respiration et à la division cellulaire pour *Thalassiosira pseudonana* (Stramski and Reynolds, 1993) et *Synechococcus* (Stramski and Reynolds, 1995).

2.5 Modèles des propriétés optiques des particules

Les modèles de propriétés optiques sont souvent utilisés pour comprendre ou interpréter les propriétés optiques du phytoplancton, qui peuvent être difficiles à mesurer. Le phytoplancton étant un groupe très diversifié en forme et en taille (Hillebrand et al., 1999, Sun and Liu, 2003) et ayant une physiologie interne loin d'être homogène, il est nécessaire de faire des hypothèses pour le modéliser.

2.5.1 Forme des particules

La forme des particules a une influence sur leurs propriétés optiques (Bohren and Singham, 1991, Clavaro et al., 2007). La rétrodiffusion est particulièrement sensible à la forme des cellules (Mishchenko, 2000, Quirantes and Bernard, 2004).

Théorie de Lorenz-Mie (sphères)

On parle de la théorie de Lorenz-Mie pour nommer une solution aux équations de Maxwell qui décrit la diffusion de la lumière par une particule sphérique homogène. Les solutions sont aussi parfois adaptées à des sphères stratifiées ou à des cylindres infinis. Bien qu'elle soit applicable dans tous les domaines de taille, on utilise particulièrement la théorie de Lorenz-Mie quand les particules sont de taille comparable à la longueur d'onde de la lumière. Plusieurs approximations ont été développées, dont l'*anomalous diffraction approximation* pour les particules relativement grandes d'un indice de réfraction se rapprochant de 1 (Van de Hulst, 1957).

La théorie de diffusion de Lorenz-Mie est de loin la plus utilisée pour modéliser le phytoplancton. Elle nécessite en entrée l'indice de réfraction complexe et la distribution de taille des particules (Mobley *et al.*, 2010). Plusieurs études ont conclu que ce modèle de particule homogène, bien qu'il arrive à bien modéliser la diffusion totale, sous-estime le coefficient de rétrodiffusion (Kitchen and Zaneveld, 1992, Quirantes and Bernard, 2004, Clavano *et al.*, 2007). L'inclusion d'une couche externe dans le modèle, pour représenter la membrane cellulaire, résulte en une augmentation du coefficient de rétrodiffusion, mais il existe encore beaucoup d'incertitude sur la représentativité de ces modèles (Meyer, 1979, Kitchen and Zaneveld, 1992).

Modèles de particules non-sphériques

Les calculs de diffusion à partir de modèles de particules non-sphériques sont généralement complexes et des techniques de calcul telles que la T-matrix sont utilisées (Waterman, 1971). La « *discrete dipole approximation* » a par ailleurs été utilisée pour modéliser des disques pour représenter des coccolithophores (Zhai *et al.*, 2013) et leurs coccolithes (Gordon and Du, 2001, Gordon, 2006). L'approximation de Schiff quant à elle a été utilisée pour représenter du phytoplancton de formes complexes (Dauchet *et al.*, 2015). Pour les agrégats, le modèle Generalized Multiparticle Mie-solution (GMM) calcule la diffusion à partir de la théorie de Mie (Xu and Gustafson, 2001).

Les modèles de particules de formes complexes cités ici montrent généralement des résultats semblables aux mesures des propriétés optiques, incluant la rétrodiffusion. Par contre, ils requièrent habituellement des calculs complexes et longs. Quirantes and Bernard (2006) ont par

ailleurs démontré qu'un modèle de sphères recouvertes d'une coquille représentant la structure interne du phytoplancton avait des performances équivalentes à celles d'un modèle de sphéroïde recouvert d'une coquille pour la diffusion et la rétrodiffusion. Cela pourrait indiquer que la structure interne des particules modélisées pourrait avoir plus d'importance que sa forme.

Modèle de particules hexahédrales

Un modèle de particules hexahédrales asymétriques a été créé à l'origine pour des particules atmosphériques par Bi et al. (2010). Ces particules atmosphériques n'ont pas de forme particulière, comme les particules présentes dans l'océan (incluant le phytoplancton). Ce modèle a donc été utilisé pour représenter les particules océaniques (Zhang et al., 2013, Zhang and Gray, 2015). Ce modèle a aussi montré un ratio de rétrodiffusion (b_{bp}/b_p) plus grand que celui du modèle sphérique pour des indices de réfraction représentant des particules organiques (Xu et al., 2017). De plus, il ne cause pas l'effet d'arc-en-ciel présent dans les modèles de particules sphériques. Il pourrait potentiellement donner des résultats plus intéressants que le modèle de sphéroïdes avec couche externe testé par Quirantes and Bernard (2006), qui donnait des résultats équivalents aux sphères recouvertes d'une couche. Il présente donc un potentiel à explorer pour modéliser le phytoplancton.

2.5.2 Les indices de réfraction

L'indice de réfraction (m , sans unité) du phytoplancton est représenté par un nombre complexe

$$m(\lambda) = n(\lambda) + i \cdot n'(\lambda) . \quad (11)$$

Où n (sans unité) est la partie réelle de l'indice de réfraction représentant la vitesse de phase de l'onde et n' (sans unité) est la partie imaginaire, représentant l'absorption.

La partie réelle de l'indice de réfraction est généralement liée à la concentration de carbone chez le phytoplancton (Stramski and Morel, 1990, Stramski and Reynolds, 1993, Stramski et al., 1995) et la partie imaginaire à la pigmentation. Les variations spectrales sont en général plus fortes pour la partie imaginaire de l'indice. Dans ce document, on présentera toujours l'indice de réfraction relatif à l'eau pour la diffusion ($n=1.334$).

L'indice de réfraction du phytoplancton dépend de sa composition interne (Aas, 1996). La partie réelle peut être mesurée en laboratoire par immersion des particules dans des liquides dont l'indice de réfraction est connu jusqu'à ce que les contours des cellules disparaissent (Hodgson and Newkirk, 1975). Cette méthode est toutefois imparfaite pour les particules non homogènes (comme le phytoplancton) (Hodgson and Newkirk, 1975, Aas, 1996) et est très laborieuse.

L'indice de réfraction peut aussi être dérivé d'une recherche itérative basée sur la théorie de Lorenz-Mie ou l'*anomalous diffraction approximation* (e.g. Bricaud and Morel, 1986, Bricaud et al., 1988, Stramski et al., 1988, Morel and Ahn, 1990, Stramski and Morel 1990, Stramski and Reynolds 1993, Stramski et al., 1995, Stramski and Mobley, 1997). Étant donné que ces méthodes utilisent des modèles sphériques homogènes pour déterminer l'indice de réfraction, elles ne sont pas idéales lorsque l'objectif d'une étude est d'évaluer l'applicabilité de ces modèles au phytoplancton. Toutefois, ce sont des méthodes plus accessibles que la méthode de mesures directes et représentent une approximation acceptable la plupart du temps.

2.5.3 Représentation de la structure interne du phytoplancton

Aperçu de la physiologie du phytoplancton

Tel qu'illustré humoristiquement à la figure 7, même les représentations de particules uniformes de formes complexes sont de grossières simplifications de la physiologie des cellules vivantes. Cette section portera donc sur les facteurs de la physiologie cellulaire du phytoplancton qui peuvent influencer leurs propriétés optiques.

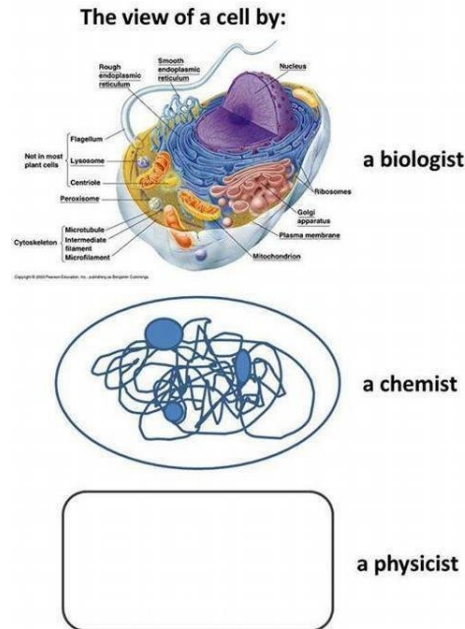


Figure 7 : Illustration humoristique de la façon dont la physiologie cellulaire est simplifiée par des modèles. Tiré de LoversScience(2014).

Le phytoplancton est composé en partie de procaryotes, les cyanobactéries, dont les cellules ne possèdent pas de noyau, et d'eucaryotes, qui en possèdent. Les cyanobactéries seraient à l'origine des chloroplastes chez les plantes. Chez les cyanobactéries (Fig. 8), le matériel génétique se trouve librement à l'intérieur de la cellule. L'indice de réfraction réel de l'ADN (par rapport à l'eau) serait entre 1.09 et 1.17 (Elhadj et al., 2004). Le cytoplasme est essentiellement composé d'eau et a un indice de réfraction rapporté entre 1.015 (Bricaud et al., 1992) et 1.035 (Quirantes and Bernard, 2006)(voir Moutier, 2016). La chlorophylle est située dans les thylakoïdes, un empilement de membranes où l'énergie lumineuse est absorbée et transférée vers le centre de réaction. L'indice de réfraction de la chlorophylle se situe entre 1.14 et 1.15 (Aas, 1996). Les cyanobactéries ont une membrane cellulaire composée de peptidoglycane dont l'indice de réfraction est de 1.09-1.1 chez les bactéries (Marquis, 1973).

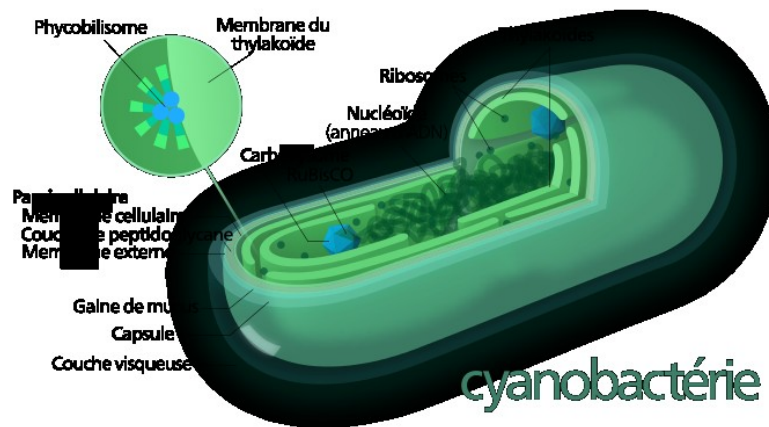


Figure 8 : Représentation de la physiologie d'une cyanobactérie. (Kelvin13, image sous licence *Creative Commons*).

Les espèces eucaryotes de phytoplancton ont une structure interne plus complexe, possédant des organelles munies de membranes à l'intérieur de leur cellule (Fig. 9). Le chloroplaste peut prendre une grande place à l'intérieur des cellules du phytoplancton, entre 4 et 57% avec une médiane de 20% (Bernard et al., 2009). Il est composé d'un empilement de membranes de thylakoïdes et a un indice de réfraction de 1.05-1.06 (Aas, 1996). Le noyau contient le matériel génétique de la cellule. Les cellules possèdent une membrane dont la composition varie (Van Mooy et al., 2009). Certaines espèces possèdent une vacuole gazeuse pour ajuster leur flottaison ou des vésicules de lipides comme réserves énergétiques. Certains groupes de phytoplancton possèdent une couche externe. Les diatomées possèdent des frustules composées de silice aussi appelée opale ($n = 1.05-1.1$, Aas, 1996). Les frustules sont composées de deux valves qui s'emboîtent. Les coccolithophores possèdent quant à eux une couche de coccolithes de calcite ($n = 1.2$) qui sont produits continuellement dans la cellule et dont la couche externe tombe au fur et à mesure que de nouvelles couches sont produites. La structure complexe des cellules ne peut pour le moment être reproduite fidèlement par les modèles. Toutefois, pour s'en rapprocher, on fait appel aux modèles possédant des couches de différents indices de réfraction.

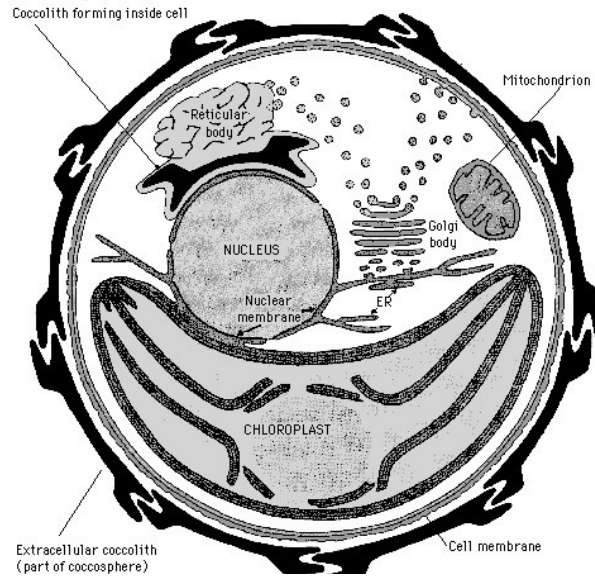


Figure 9 : Représentation schématique d'une cellule d'*Emiliana huxleyi*, une coccolithophore.

Tiré de Westbroek (année inconnue).

La couche externe dans les modèles sphériques à multicouche a été utilisée pour représenter la membrane cellulaire, les frustules ou les coccolithes, avec pour effet d'augmenter le ratio de rétrodiffusion (Meyer, 1979, Quinby-Hunt et al., 1989, Bricaud et al., 1992, Kitchen and Zaneveld, 1992, Quirantes and Bernard, 2004). Certains ont inclus les chloroplastes comme une couche externe (Quirantes and Bernard, 2006, Bernard et al., 2009, Moutier et al., 2016) ou comme cœur de la particule dans les modèles (Zaneveld and Kitchen, 1995). Les vacuoles gazeuses ont aussi été représentées (Matthews and Bernard, 2013). Des modèles à trois couches ont aussi été utilisés pour représenter différentes combinaisons des parties de la cellule (Meyer and Brunsting, 1975, Kitchen and Zaneveld 1992, Zaneveld and Kitchen, 1995, Moutier et al., 2016). Les modèles à deux ou trois couches montrent que la rétrodiffusion est la propriété optique inhérente la plus affectée par la représentation de la structure interne des cellules (Zaneveld and Kitchen, 1995). L'absorption et l'atténuation sont en effet bien modélisées par les modèles sphériques homogènes, mais pas la rétrodiffusion qui est sous-estimée (Bricaud and Morel, 1986, Bricaud et al., 1988, Zaneveld and Kitchen, 1995, Quirantes and Bernard, 2004).

2.5.4 Les distributions de tailles

Des distributions de Junge caractérisées par des pentes allant de 2.5 à 5 sont souvent utilisées pour modéliser les distributions de tailles des particules océaniques (Bader, 1970). Ces lois de puissance sont calculées de la façon suivante

$$N = K (x/x_0)^{-c} \quad (12)$$

où N est la concentration de particules de taille supérieure à une taille donnée, K est la concentration de particules supérieures à $1 \mu\text{m}$, x est un paramètre de taille et c est l'exposant de Junge. Certains séparent la distribution en deux parties de pente différente pour les petites et les plus grandes particules (Brown and Gordon, 1974, Kitchen and Zaneveld, 1990). Ces simplifications sont une source de différences entre les modèles et les mesures, car les distributions de tailles naturelles, bien qu'elles suivent habituellement ces distributions, peuvent en diverger, comme on peut en voir des exemples dans figure 10.

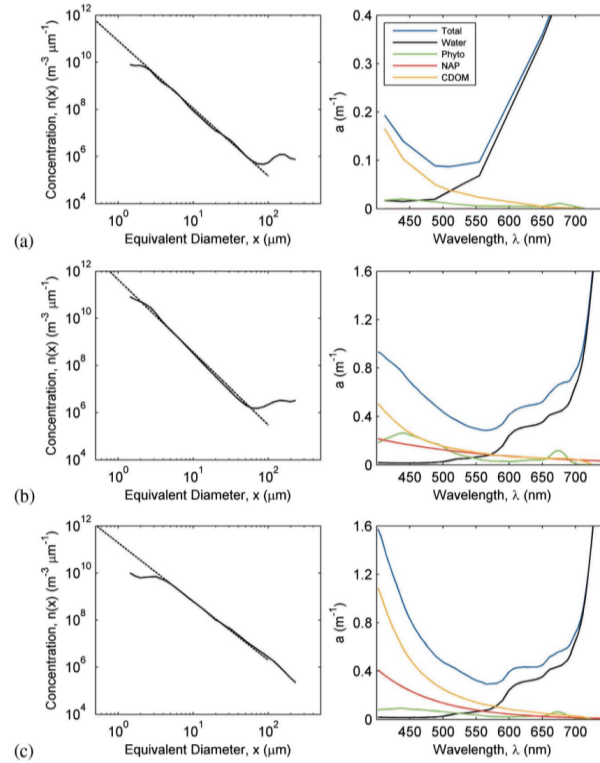


Figure 10 : Distributions de tailles mesurées dans trois types d'eau comparées à des distributions de Junge et les spectres d'absorption de leurs constituants. Tiré de Tonizzo et al.(2011).

2.6 Problématique

Bien que la rétrodiffusion soit la source de la lumière utilisée pour la télédétection océanique on en connaît très peu sur la source de cette rétrodiffusion. On attribue actuellement au phytoplancton qu'une petite partie de la rétrodiffusion en mer. La plus grande partie étant associée aux très petites particules inertes ($< 1 \mu\text{m}$) qui sont très difficiles à mesurer (e.g. Morel and Bricaud, 1981, Stramski *et al.*, 2001). L'un des indices de la supposée grande contribution des petites particules à la rétrodiffusion provient des résultats de modélisations utilisant le modèle de particules sphériques homogènes de Lorenz-Mie. Cependant, il est connu que ce modèle sous-estime la rétrodiffusion.

Par ailleurs, les liens entre l'atténuation et la biologie étant relativement bien connus, il est tentant d'espérer que la rétrodiffusion soit directement proportionnelle à l'atténuation, puisque c'est la rétrodiffusion qui est liée à la réflectance de télédétection. Par contre, des études, notamment sur les variations journalières dans l'océan (Kheireddine et al., 2014), indiquent que ces deux propriétés optiques ne donnent pas la même information.

Il y a donc lieu d'étudier les liens entre b_{bp} , et les autres IOPs afin de comprendre leurs relations. De plus, l'étude des liens entre ces IOPs et la biologie est nécessaire pour expliquer ce qui les influence.

3.Objectifs et hypothèse

3.1 Objectif général

L'objectif de ce projet doctoral est de décrire et comprendre les liens entre les variations journalières de propriétés optiques du phytoplancton et leur écophysiologie afin de voir si b_{bp} varie journalièrement et si ces variations concordent avec des mesures biologiques.

3.2 Objectifs spécifiques

Pour y arriver, le premier objectif est de réaliser une expérience de laboratoire afin d'étudier, en conditions contrôlées, les variations des propriétés optiques du phytoplancton et de leur écophysiologie afin de voir si b_{bp} varie journalièrement et si ces variations concordent avec des mesures biologiques.

Le second objectif est d'utiliser les données amassées lors des expériences en laboratoire afin de comprendre les facteurs influençant les variations journalières des propriétés optiques en laboratoire pour savoir quelles informations pourraient être tirées de celles-ci et l'applicabilité des différents modèles au phytoplancton.

3.3 Hypothèse

L'hypothèse principale de cette étude est la suivante :

- Hypothèse nulle : b_{bp} et b_{bp} par cellule ne varie pas journalièrement et cela ne concorde pas avec des facteurs biologiques
- Hypothèse alternative : b_{bp} et b_{bp} par cellule varie journalièrement en laboratoire et ces variations concordent avec des facteurs biologiques

4.Méthodologie

Bien que les détails de la méthodologie soient expliqués dans les articles aux chapitres 4 et 5, nous donnerons ici une vue d'ensemble de la méthodologie afin de faciliter la compréhension du projet. Les étapes principales comprenant la séquence de travaux en laboratoire et l'utilisation des données amassées dans les modèles sont représentées à la figure 11.

La méthodologie consiste en deux grandes étapes : l'observation des IOPs sur des cultures de phytoplancton en laboratoire et l'utilisation des données du laboratoire pour la modélisation théorique des IOPs.

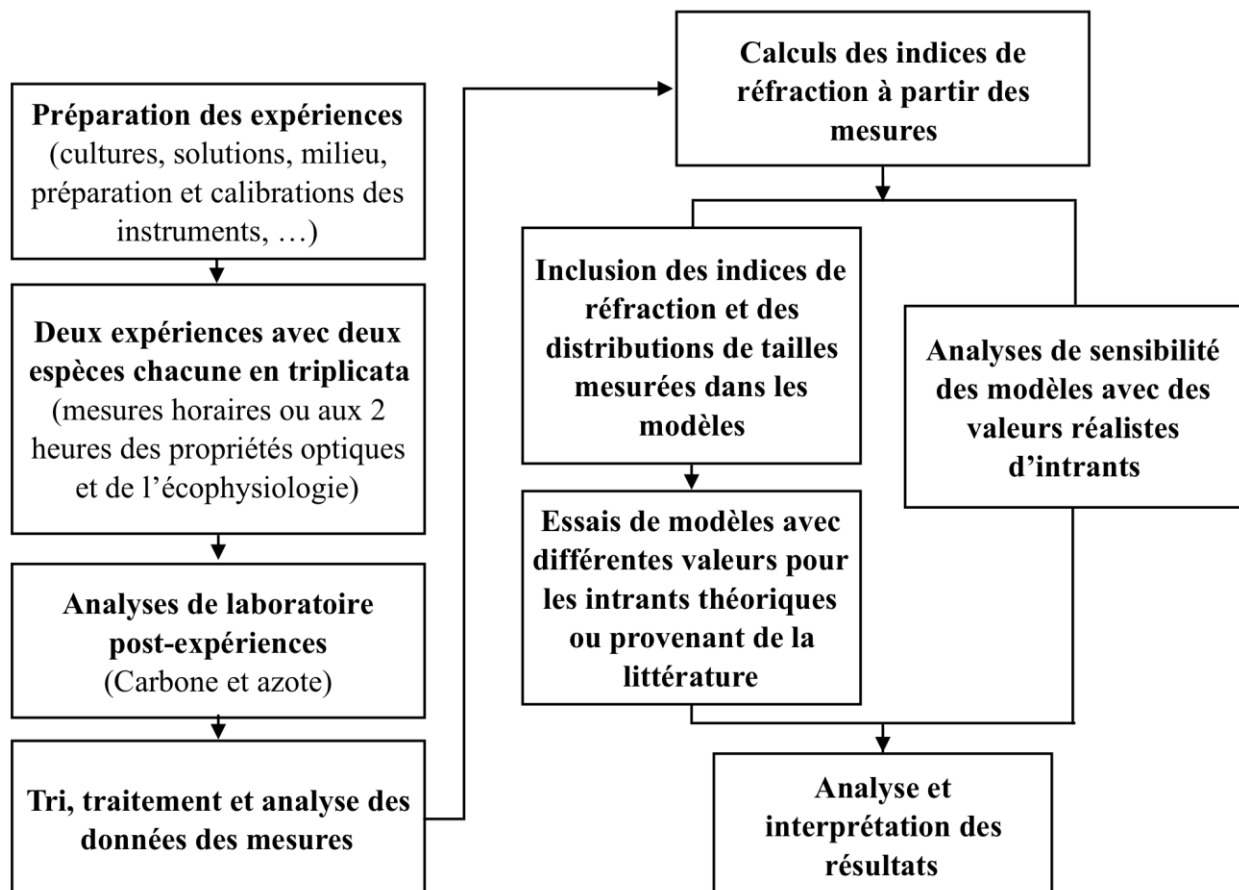






Figure 11 : Organigramme méthodologique du projet de thèse

4.1 Expériences de laboratoire

Nous avons réalisé une série de deux expériences principales, comprenant deux espèces chacune. Dans un souci d'obtenir des résultats reproductibles et justes, nous avons porté attention tant à la qualité des cultures, à la justesse des instruments utilisés et à l'analyse des résultats.

4.1.1 Cultures

Les espèces étudiées ont été choisies pour leurs propriétés optiques différentes. Il s'agit de *Dunaliella tertiolecta* , une algue verte, *Thalassiosira pseudonana* , une diatomée de symétrie centrique, *Phaeodactylum tricornutum* , une diatomée pennée et *Emiliana huxleyi* , une haptophyte coccolithophore. Ces espèces font toutes partie du nanoplancton marin et leur diamètre varie entre 3 et 7 μm environ. Le nanoplancton forme environ 45% des biomasses phytoplanctoniques dans la majorité de l'océan (Uitz et al., 2006).

Nous avons cultivé ces espèces en semi-continu, c'est-à-dire que nous avons dilué les cultures chaque jour avec du milieu de culture filtré deux fois à 0.2 μm afin de maintenir un faible niveau de petites particules et de garder les cultures dans une phase de croissance exponentielle en empêchant leur limitation en carbone.

Les conditions de croissance étaient contrôlées, avec un éclairage artificiel suivant une courbe sinusoïdale du lever au coucher du soleil (12h : 12h) avec un maximum de 400 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ à l'extérieur des contenants de quatre litres dans lesquels se trouvaient les cultures. La température était maintenue à 19 °C. Ces conditions visaient à représenter celles qu'on pourrait retrouver dans la couche supérieure de l'océan.

4.1.2 Instrumentation

ac-s

L'ac-s (Wetlabs, USA) est un spectrophotomètre dédié à la mesure hyperspectrale de l'atténuation et de l'absorption de l'eau. Il est composé de deux cavités cylindriques d'une longueur de 25 cm dans lesquelles circule l'eau à mesurer. Une source lumineuse est placée à

une extrémité du tube et à l'autre, un détecteur. Le tube consacré à la mesure de l'absorption possède des parois réfléchissantes et un détecteur large, afin que toute la lumière non absorbée se rende au détecteur. Le tube consacré à l'atténuation possède des parois mates et un détecteur collimaté.

L'étalonnage de l'appareil a été vérifié dans l'air et avec de l'eau ultrapure Milli-Q (Millipore, USA) en utilisant le même montage avant et après la série d'expériences. Le traitement des données inclut une interpolation de l'absorption sur l'atténuation et une correction pour la température et la salinité (Slade et al., 2010).

ECO BB9

L'ECO BB9 (WetLabs, USA, wavelengths: 407, 439, 485, 507, 527, 594, 651, 715, 878 nm) est un appareil de mesure de la fonction de diffusion à 124° à neuf longueurs d'onde. Cet angle a été choisi par le constructeur, car il est le plus fortement relié à la rétrodiffusion totale. Neuf sources lumineuses situées sur trois têtes éclairent l'eau et la lumière diffusée est mesurée dans un détecteur qui forme un angle de 124° avec la source.

L'appareil utilisé a été calibré avec des billes de polystyrène au Harbor Branch Oceanographic Institute (USA) 7 mois avant et 5 mois après notre série d'expériences. Nous avons interpolé les deux pentes de calibration et valeurs « dark » pour obtenir les valeurs de calibration utilisées pour nos résultats. Nous avons réalisé une validation des pentes de calibration quelques jours après nos expériences avec le même contenant en polyéthylène et différentes concentrations de billes de polystyrène et nos valeurs étaient près des valeurs de calibration interpolées dans une mesure de 0.3%-9%, ce qui est raisonnable compte tenu des incertitudes qui viennent avec la calibration et les mesures prises avec cet instrument. Les valeurs obtenues par la tête bleue de l'appareil ont par contre été notées comme étant problématiques, possiblement que le capteur était à la fin de sa vie utile. Nous en avons tenu compte dans l'interprétation de nos résultats.

Coulter Counter

Le Coulter Counter est un appareil servant à compter et à mesurer les particules. Une solution conductrice d'électricité (électrolyte) contenant les particules à compter circule dans l'orifice d'un tube de verre muni d'une électrode. Les particules, qui sont moins conductrices que le

liquide dans lequel elles sont placées, créent une résistance qui peut être mesurée comme une variation de voltage lors du passage de la particule dans l'orifice. L'analyse de ce voltage et la calibration permettent de connaître la taille des particules en plus de leur nombre. Nous avons utilisé le modèle *Multisizer 4 Coulter Counter* (Beckman Coulter, USA) qui permet d'obtenir les distributions de tailles automatiquement. Un tube avec un orifice de 100 μm a été utilisé et nous avons dilué les cultures environ 100 fois pour les mesures avec une solution de NaCl et d'eau ultrapure. L'appareil a été calibré avec des billes de polystyrène de 5 μm . La taille minimale des particules mesurées est de 2.4 μm et la taille des classes de tailles données par le *Coulter Counter* avec le tube que nous avons utilisé est de 0.2 μm .

Trilogy Fluorometer

Le fluorimètre Trilogy (Turner Designs, USA) équipé avec un module Chl Non-Acidification Module (Turner Designs, USA) permet de mesurer la fluorescence émise par les molécules de chlorophylle extraites 15 minutes au noir dans une solution d'acétone et de DMSO (dimethyl sulphoxide). Cet appareil a été calibré avant l'expérience avec des dilutions d'une solution standard de chlorophylle. La stabilité de la calibration était vérifiée quotidiennement avec un standard secondaire solide de fluorescence.

CHN

Le CHN est un instrument utilisé pour mesurer les concentrations de carbone, d'hydrogène et d'azote d'échantillons. Les échantillons y sont brûlés pour les oxyder en composés simples qui seront détectés par la suite. Les analyses de CHN ont été menées par un laboratoire externe.

4.2 Modèles des propriétés optiques

La méthodologie utilisée pour les modèles a été détaillée dans l'article *Diurnal variations of the attenuation, backscattering and absorption coefficients of 4 phytoplankton species and comparison with spherical, coated spherical and hexahedral particle optical models* à la section 6, mais l'idée générale est décrite ici.

Nous avons utilisé les modèles de particules sphériques homogènes, sphériques recouvertes d'une couche externe et hexaédrales décrits à la section 1.5.1.

Les modèles de particules sphériques et hexahédrales représentaient des extrêmes de forme : forme symétrique *versus* non-symétrique et courbes lisses *versus* arrêtes pointues. L'utilisation des modèles de sphères recouvertes ou non d'une couche externe servait à comparer l'homogénéité à l'hétérogénéité.

Nous avons premièrement étudié les facteurs ayant le plus d'influence sur les résultats des modèles en réalisant une analyse de sensibilité. Nous avons ensuite tenté de reproduire les mesures de variations journalières des propriétés optiques avec les modèles. Pour ce faire, nous avons utilisé les mesures de carbone, d'absorption et de chlorophylle pour déduire des variations journalières des indices de réfraction des cellules. Nous avons aussi utilisé les distributions de tailles mesurées avec le Coulter Counter, que nous avons complétées avec une distribution de Junge pour les petites particules que le Coulter Counter ne peut pas mesurer.

5. Résultats : Diurnal variations of the optical properties of phytoplankton in a laboratory experiment and their implication for using inherent optical properties to measure biomass

Afin de mieux comprendre les facteurs qui influencent les variations journalières des propriétés optiques de l'eau de mer observées en mer, une série d'expériences de laboratoire a été menée. Cela a permis d'isoler, autant que possible, le phytoplancton des autres particules qui sont présentes en mer afin de comprendre la contribution du phytoplancton aux variations journalières des propriétés optiques. Quatre espèces possédant des tailles et des morphologies laissant présager différentes propriétés optiques ont été choisies.

Les propriétés optiques des triplicats de cultures ont été mesurées toutes les deux heures durant une journée. Ces propriétés comprenaient le coefficient d'atténuation particulaire (c_p), le coefficient d'absorption particulaire (a_p) et le coefficient de rétrodiffusion particulaire (b_{bp}). Nous avons aussi effectué des mesures physiologiques telles que la concentration en chlorophylle, en azote et en carbone ainsi que la distribution de tailles des cellules.

Les expériences de laboratoire ont permis d'observer les variations journalières de la physiologie du phytoplancton et de leurs propriétés optiques. Ces variations journalières étaient différentes d'une espèce à l'autre. Nous avons observé des variations journalières dans les distributions de tailles des cellules ainsi que dans leur contenu en carbone, azote et en chlorophylle. Des corrélations entre certains des facteurs physiologiques et les variations journalières des propriétés optiques nous ont aidé à comprendre ce qui influençait les variations journalières des propriétés optiques de nos cultures de phytoplancton. Ces résultats sont présentés dans l'article « *Diurnal variations of the optical properties of phytoplankton in a laboratory experiment and their*

implication for using inherent optical properties to measure biomass» publié en janvier 2018 dans *Optics Express*, 26(2), 711-729.

Titre français

Les variations journalières des propriétés optiques du phytoplancton dans une expérience de laboratoire et leurs implications pour utiliser les propriétés optiques inhérentes pour mesurer la biomasse

Auteurs

Carina Poulin, David Antoine et Yannick Huot

Revue

Optics Express

Dates de soumission et de publication

Article soumis le 25 septembre 2017 et publié en janvier 2018.

5.1 Article

Title: Diurnal variations of the optical properties of phytoplankton in a laboratory experiment and their implication for using inherent optical properties to measure biomass

Carina Poulin,^{1*} David Antoine² and Yannick Huot¹

▪ ¹Géomatique appliquée, Université de Sherbrooke, 2500, boul. de l'Université, Sherbrooke, J1K 2R1, Canada

²Remote Sensing and Satellite Research Group, Curtin University, Building 301, room 146, GPO Box U1987, Perth, WA 6845, Australia

*carina.poulin@usherbrooke.ca

Abstract: Diurnal variations of phytoplankton size distributions, chlorophyll, carbon and nitrogen content, *in vivo* fluorescence and associated optical absorption and scattering properties were observed in the laboratory to help understand *in situ* and spatial observations. We grew

triplicate semi-continuous cultures of *T. pseudonana*, *D. tertiolecta*, *P. tricornutum* and *E. huxleyi* under a sinusoidal light regime. We observed diurnal variations in the particulate absorption (a_p), scattering (b_p), attenuation (c_p), and backscattering coefficients (b_{bp}), which correlate with carbon and Chl concentrations. Relative variations from sunrise of b_{bp} are slightly lower than those of c_p , suggesting that b_{bp} diurnal increases observed in nature are partly caused by phytoplankton. Non-concurrent changes of carbon and Chl-specific backscattering and scattering coefficients and optical cross-sections however indicates that using backscattering to infer scattering or biomass must be done with care.

© 2017 Optical Society of America under the terms of the [OSA Open Access Publishing Agreement](#)

OCIS codes: (010.4450) Oceanic optics; (010.4458) Oceanic scattering; (010.1350) Backscattering; (010.1030) Absorption; (010.0010) Atmospheric and oceanic optics.

References and links

1. C. R. McClain, "A decade of satellite ocean color observations," *Ann Rev Mar Sci* **1**, 19-42 (2009).
2. J. -K. Choi, Y. J. Park, J. H. Ahn, H. -S. Lim, J. Eom and J. -H. Ryu, "GOCI, the world's first geostationary ocean color observation satellite, for the monitoring of temporal variability in coastal water turbidity," *Journal of Geophysical Research: Oceans* **117**, (2012).
3. R. W. Preisendorfer, "Hydrologic optics. Vol. I. Introduction. US Department of Commerce, National Oceanic and Atmospheric Administration," *Environment Research Laboratory* (1976).
4. R. R. Bidigare, J. H. Morrow and D. A. Kiefer, "Derivative analysis of spectral absorption by photosynthetic pigments in the western Sargasso Sea," *Journal of Marine Research* **47**, 323-341 (1989).
5. Bricaud, A. Morel and L. Prieur, "Optical efficiency factors of some phytoplankters," *Limnology and Oceanography* **28**, 816-832 (1983).
6. Morel and A. Bricaud, "Inherent optical properties of algal cells including picoplankton: theoretical and experimental results," *Can. Bull. Fish. Aquat. Sci* **214**, 521-559 (1986).

7. E. Boss and W. S. Pegau, "Relationship of light scattering at an angle in the backward direction to the backscattering coefficient," *Appl Opt* **40**, 5503-7 (2001).
8. M. J. Behrenfeld, E. Boss, D. A. Siegel and D. M. Shea, "Carbon-based ocean productivity and phytoplankton physiology from space," *Global biogeochemical cycles* **19**, (2005).
9. H. R. Gordon and A. Y. Morel, *Remote Assessment of Ocean Color for Interpretation of Satellite Visible Imagery: A Review* (Springer Science & Business Media, 2012), Vol. 4.
10. W. D. Gardner, I. D. Walsh and M. J. Richardson, "Biophysical forcing of particle production and distribution during a spring bloom in the North Atlantic," *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography* **40**, 171-195 (1993).
11. H. Loisel and A. Morel, "Light scattering and chlorophyll concentration in case 1 waters: A reexamination," *Limnology and Oceanography* **43**, 847-858 (1998).
12. H. Claustre, A. Morel, M. Babin, C. Cailliau, D. Marie, J. -C. Marty, D. Tailliez and D. Vaultot, "Variability in particle attenuation and chlorophyll fluorescence in the tropical Pacific: Scales, patterns, and biogeochemical implications," *Journal of Geophysical Research: Oceans* **104**, 3401-3422 (1999).
13. O. Ulloa, S. Sathyendranath and T. Platt, "Effect of the particle-size distribution on the backscattering ratio in seawater," *Applied Optics* **33**, 7070-7077 (1994).
14. Morel and S. Maritorena, "Bio-optical properties of oceanic waters: A reappraisal," *Journal of Geophysical Research: Oceans* **106**, 7163-7180 (2001).
15. M. S. Twardowski, E. Boss, J. B. Macdonald, W. S. Pegau, A. H. Barnard and J. R. V. Zaneveld, "A model for estimating bulk refractive index from the optical backscattering ratio and the implications for understanding particle composition in case I and case II waters," *Journal of Geophysical Research: Oceans* **106**, 14129-14142 (2001).
16. Y. Huot, A. Morel, M. S. Twardowski, D. Stramski and R. A. Reynolds, "Particle optical backscattering along a chlorophyll gradient in the upper layer of the eastern South Pacific Ocean," *Biogeosciences Discussions* **4**, 4571-4604 (2007).
17. Vaultot, D. Marie, R. J. Olson and S. W. Chisholm, "Growth of prochlorococcus, a photosynthetic prokaryote, in the equatorial pacific ocean," *Science* **268**, 1480-2 (1995).
18. L. Suzuki and C. H. Johnson, "Algae know the time of day: circadian and photoperiodic programs," *Journal of Phycology* **37**, 933-942 (2001).

19. F. Bruyant, M. Babin, B. Genty, O. Prasil, M. J. Behrenfeld, H. Claustre, A. Bricaud, L. Garczarek, J. Holtzendorff and M. Koblizek, "Diel variations in the photosynthetic parameters of *Prochlorococcus* strain PCC 9511: Combined effects of light and cell cycle," *Limnology and Oceanography* **50**, 850-863 (2005).
20. T. G. Owens, P. G. Falkowski and T. E. Whitledge, "Diel periodicity in cellular chlorophyll content in marine diatoms," *Marine Biology* **59**, 71-77 (1980).
21. D. Stramski and R. A. Reynolds, "Diel variations in the optical properties of a marine diatom," *OCEANOGRAPHY* **38**, (1993).
22. S. Jacquet, F. Partensky, D. Marie, R. Casotti and D. Vaultot, "Cell cycle regulation by light in *Prochlorococcus* strains," *Appl Environ Microbiol* **67**, 782-90 (2001).
23. M. D. DuRand, R. E. Green, H. M. Sosik and R. J. Olson, "Diel variations in optical properties of *Micromonas pusilla* (prasinophyceae) 1," *Journal of phycology* **38**, 1132-1142 (2002).
24. Poulin, F. Bruyant, M. -H. Laprise, A. M. Cockshutt, J. M. -R. Vandenhecke and Y. Huot, "The impact of light pollution on diel changes in the photophysiology of *Microcystis aeruginosa*," *Journal of plankton research* **36**, 286-291 (2013).
25. L. W. Harding, B. W. Meeson, B. B. Prézelin and B. M. Sweeney, "Diel periodicity of photosynthesis in marine phytoplankton," *Marine Biology* **61**, 95-105 (1981).
26. H. Claustre, A. Bricaud, M. Babin, F. Bruyant, L. Guillou, F. Le Gall, D. Marie and F. Partensky, "Diel variations in *Prochlorococcus* optical properties," *Limnology and Oceanography* **47**, 1637-1647 (2002).
27. M. D. DuRand and R. J. Olson, "Diel patterns in optical properties of the chlorophyte *Nannochloris* sp.: Relating individual-cell to bulk measurements," *Limnology and Oceanography* **43**, 1107-1118 (1998).
28. N. Ohi, Y. Ishiwata and S. Taguchi, "Diel patterns in light absorption and absorption efficiency factors of *isochrysis galbana* (prymnesiophyceae) 1," *Journal of phycology* **38**, 730-737 (2002).
29. Stramski, A. Shalapyonok and R. A. Reynolds, "Optical characterization of the oceanic unicellular cyanobacterium *Synechococcus* grown under a day-night cycle in natural irradiance," *Journal of Geophysical Research: Oceans* **100**, 13295-13307 (1995).

30. A. Siegel, T. D. Dickey, L. Washburn, M. K. Hamilton and B. G. Mitchell, "Optical determination of particulate abundance and production variations in the oligotrophic ocean," *Deep Sea Research Part A: Oceanographic Research Papers* **36**, 211-222 (1989).
31. J. J. Cullen, M. R. Lewis, C. O. Davis and R. T. Barber, "Photosynthetic characteristics and estimated growth rates indicate grazing is the proximate control of primary production in the equatorial Pacific," *Journal of Geophysical Research: Oceans* **97**, 639-654 (1992).
32. M. D. Durand and R. J. Olson, "Contributions of phytoplankton light scattering and cell concentration changes to diel variations in beam attenuation in the equatorial Pacific from flow cytometric measurements of pico-, ultra-and nanoplankton," *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography* **43**, 891-906 (1996).
33. J. K. Bishop, S. E. Calvert and M. Y. Soon, "Spatial and temporal variability of POC in the northeast Subarctic Pacific," *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography* **46**, 2699-2733 (1999).
34. W. D. Gardner, J. S. Gundersen, M. J. Richardson and I. D. Walsh, "The role of seasonal and diel changes in mixed-layer depth on carbon and chlorophyll distributions in the Arabian Sea," *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography* **46**, 1833-1858 (1999).
35. M. J. Behrenfeld and E. Boss, "The beam attenuation to chlorophyll ratio: an optical index of phytoplankton physiology in the surface ocean?" *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers* **50**, 1537-1549 (2003).
36. H. Claustre, Y. Huot, I. Obernosterer, B. Gentili, D. Tailliez and M. Lewis, "Gross community production and metabolic balance in the South Pacific Gyre, using a non intrusive bio-optical method," *Biogeosciences Discussions* **4**, 3089-3121 (2007).
37. G. Dall'Olmo, T. K. Westberry, M. J. Behrenfeld, E. Boss and W. H. Slade, "Significant contribution of large particles to optical backscattering in the open ocean," *Biogeosciences* **6**, 947-967 (2009).
38. M. Stramska and T. D. Dickey, "Short-term variations of the bio-optical properties of the ocean in response to cloud-induced irradiance fluctuations," *Journal of Geophysical Research: Oceans* **97**, 5713-5721 (1992).
39. H. Loisel, V. Vantrepotte, K. Norkvist, X. Meriaux, M. Kheireddine, J. Ras, M. Pujo-Pay, Y. Combet, K. Leblanc and G. Dall'Olmo, "Characterization of the bio-optical anomaly and

- diurnal variability of particulate matter, as seen from scattering and backscattering coefficients, in ultra-oligotrophic eddies of the Mediterranean Sea," *Biogeosciences* **8**, 3295-3317 (2011).
40. M. Kheireddine and D. Antoine, "Diel variability of the beam attenuation and backscattering coefficients in the northwestern Mediterranean Sea (BOUSSOLE site)," *Journal of Geophysical Research: Oceans* **119**, 5465-5482 (2014).
 41. R. R. L. Guillard and P. E. Hargraves, "Stichochrysis immobilis is a diatom, not a chrysophyte," *Phycologia* **32**, 234-236 (1993).
 42. Z. S. Kolber, O. Prasil and P. G. Falkowski, "Measurements of variable chlorophyll fluorescence using fast repetition rate techniques: defining methodology and experimental protocols," *Biochim Biophys Acta* **1367**, 88-106 (1998).
 43. N. A. Welschmeyer, "Fluorometric analysis of chlorophyll a in the presence of chlorophyll b and pheopigments," *Limnology and Oceanography* **39**, 1985-1992 (1994).
 44. H. L. MacIntyre and J. J. Cullen, "Using cultures to investigate the physiological ecology of microalgae," *Algal culturing techniques* 287-326 (2005).
 45. W. H. Slade, E. Boss, G. Dall'Olmo, M. R. Langner, J. Loftin, M. J. Behrenfeld, C. Roesler and T. K. Westberry, "Underway and moored methods for improving accuracy in measurement of spectral particulate absorption and attenuation," *Journal of Atmospheric and Oceanic Technology* **27**, 1733-1746 (2010).
 46. Morel, "Optical properties of pure water and pure sea water," *Optical aspects of oceanography* **1**, 1-24 (1974).
 47. T. Oishi, "Significant relationship between the backward scattering coefficient of sea water and the scatterance at 120 degrees," *Appl Opt* **29**, 4658-65 (1990).
 48. J. M. Sullivan, M. S. Twardowski, J. Ronald, V. Zaneveld and C. C. Moore, "Measuring optical backscattering in water," *Light Scattering Reviews* **7** 189-224 (2013).
 49. Stramski, G. Rosenberg and L. Legendre, "Photosynthetic and optical properties of the marine chlorophyte *Dunaliella tertiolecta* grown under fluctuating light caused by surface-wave focusing," *Marine Biology* **115**, 363-372 (1993).

50. Prakash, L. Skoglund, B. Rystad and A. Jensen, "Growth and cell-size distribution of marine planktonic algae in batch and dialysis cultures," *Journal of the Fisheries Board of Canada* **30**, 143-155 (1973).
51. Bricaud and A. Morel, "Light attenuation and scattering by phytoplanktonic cells: a theoretical modeling," *Appl Opt* **25**, 571 (1986).
52. D. Stramski and A. Morel, "Optical properties of photosynthetic picoplankton in different physiological states as affected by growth irradiance," *Deep Sea Research Part A. Oceanographic Research Papers* **37**, 245-266 (1990).
53. S. G. Ackleson, J. J. Cullen, J. Brown and M. Lesser, "Irradiance-induced variability in light scatter from marine phytoplankton in culture," *Journal of Plankton Research* **15**, 737-759 (1993).
54. S. Mas, S. Roy, F. Blouin, B. Mostajir, J. C. Therriault, C. Nozais and S. Demers, "Diel variations in optical properties of *imantonia rotunda* (haptophyceae) and *thalassiosira pseudonana* (bacillariophyceae) exposed to different irradiance levels(1)," *J Phycol* **44**, 551-63 (2008).
55. M. Ragni and M. R. d'Alcalà, "Circadian variability in the photobiology of *Phaeodactylum tricornutum*: pigment content," *Journal of Plankton Research* **29**, 141-156 (2007).
56. W. M. Balch, D. T. Drapeau, T. L. Cucci, R. D. Vaillancourt, K. A. Kilpatrick and J. J. Fritz, "Optical backscattering by calcifying algae: Separating the contribution of particulate inorganic and organic carbon fractions," *Journal of Geophysical Research: Oceans* **104**, 1541-1558 (1999).
57. L. Whitmire, W. S. Pegau, L. Karp-Boss, E. Boss and T. J. Cowles, "Spectral backscattering properties of marine phytoplankton cultures," *Opt Express* **18**, 15073-93 (2010).
58. Y. -H. Ahn, A. Bricaud and A. Morel, "Light backscattering efficiency and related properties of some phytoplankters," *Deep Sea Research Part A. Oceanographic Research Papers* **39**, 1835-1855 (1992).
59. W. Zhou, G. Wang, Z. Sun, W. Cao, Z. Xu, S. Hu and J. Zhao, "Variations in the optical scattering properties of phytoplankton cultures," *Opt Express* **20**, 11189-206 (2012).

60. Linschooten, J. D. Bleijswijk, P. R. Emburg, J. P. Vrind, E. S. Kempers, P. Westbroek and E. W. Vrind-de Jong, "Role of the light-dark cycle and medium composition on the production of coccoliths by *emiliana huxleyi* (haptophyceae)," *Journal of Phycology* **27**, 82-86 (1991).
61. T. K. Westberry, G. Dall'Olmo, E. Boss, M. J. Behrenfeld and T. Moutin, "Coherence of particulate beam attenuation and backscattering coefficients in diverse open ocean environments," *Opt Express* **18**, 15419-25 (2010).
62. Antoine, D. A. Siegel, T. Kostadinov, S. Maritorena, N. B. Nelson, B. Gentili, V. Vellucci and N. Guillocheau, "Variability in optical particle backscattering in contrasting bio-optical oceanic regimes," *Limnology and Oceanography* **56**, 955-973 (2011).
63. J. M. Vandenhecke, J. Bastedo, A. M. Cockshutt, D. A. Campbell and Y. Huot, "Changes in the Rubisco to photosystem ratio dominates photoacclimation across phytoplankton taxa," *Photosynth Res* **124**, 275-91 (2015).
64. Chami, M., E. Marken, J. J. Stamnes, G. Khomenko, and G. Korotaev. "Variability of the relationship between the particulate backscattering coefficient and the volume scattering function measured at fixed angles." *Journal of Geophysical Research: Oceans* **111**, C5 (2006).
65. T. Harmel, M. Hieronymi, W. Slade, R. Röttgers, F. Roullier and M. Chami, "Laboratory experiments for inter-comparison of three volume scattering meters to measure angular scattering properties of hydrosols," *Opt Express* **24**, A234-56 (2016).
66. H. Tan, T. Oishi, A. Tanaka and R. Doerffer, "Accurate estimation of the backscattering coefficient by light scattering at two backward angles," *Appl Opt* **54**, 7718-33 (2015).

1. Introduction

Considering the vastness of the oceans and the cost and limited coverage of in situ measurements, monitoring global phytoplankton biomass and associated primary production necessitates satellite remote sensing. This has been possible for the past 40 years or so [1] using so-called “ocean color” radiometers on Sun-synchronous satellites (e.g., Sea-Viewing Wide Field-of-View Sensor, SeaWiFs, Moderate Resolution Imaging Spectroradiometer, MODIS). The advent of geostationary ocean color sensors such as GOCI (Geostationary Ocean Color Imager) in 2010, however, provides observations about every hour during daylight for latitudes lower than about 50 degrees [2], which is more than ever realized with ocean color remote

sensing. This opens the door to large-scale studies of diel variations of phytoplankton physiology, possibly improving estimation of primary productivity.

Phytoplankton are observable from space through their impact on the inherent optical properties of seawater (IOPs) [3], which in turn determine the apparent optical properties (AOPs), such as the reflectance that is derived from the satellite observations. IOPs can be measured in situ as well as in the laboratory. The two fundamental IOPs are the absorption coefficient (a , m^{-1}) and the volume scattering function (VSF or β , $\text{m}^{-1} \text{sr}^{-1}$). Integration of the VSF provides the scattering coefficient (b , m^{-1}) when performed over all scattering angles or the backscattering coefficient (b_b , m^{-1}) when only angles greater than 90° are included. The beam attenuation coefficient (c , m^{-1}) is the sum of a and b . These properties are additive, meaning they are the sum of their constituents' optical properties plus those of water itself.

Biological information can be inferred from other optical properties of phytoplankton. Generally, the absorption coefficient is indicative of pigmentation [4, 5, 6] and the scattering coefficient is linked to cell size [7] and carbon content [6, 8-12].

Particulate backscattering can give information on the cell size distribution and the bulk refractive index of particles [13-15], but it is still uncertain whether it is significantly influenced by phytoplankton in situ, although relationships between b_{bp} and chlorophyll (Chl) have been found in case 1 waters [e.g., 16].

Phytoplankton cellular cycles are dictated by the photoperiod [17]. Many in vitro studies have observed phytoplankton circadian rhythms for cellular division [18, 19], pigments and carbon cellular concentration [20-22], cell size [23], fluorescence [19, 24] and photosynthetic carbon fixation [25, 19]. Diel variations of phytoplankton optical properties have also been studied in the laboratory [19, 23, 26-29]. Notably, a daily increase in intracellular carbon concentration causing an increase in cell size and index of refraction and a nighttime decrease due to cell respiration were observed on *Thalassiosira pseudonana* [21] and *Synechococcus* [29].

Optical properties also show diel variations in the ocean. A diurnal increase of c_p has been observed many times [10, 12, 30-38]. Cullen et al. [31] found that particles and heterotrophs have a non-negligible contribution in diel variations of c_p . While phytoplankton are believed to be contributing to less than 20% of the oceanic particulate organic carbon (POC) [12], they have

more significant contribution to the diel variations [36] as the c_p measurement is particularly sensitive to the size range of phytoplankton. b_{bp} also shows a daily increase in the ocean, but the relative daily increase is slightly lower than c_p [39, 40].





The diurnal variations of b_{bp} in cultures have not yet been studied and could give some important information on the factors that influence b_{bp} in the ocean.

The main objective of this study was to describe the diel variations in optical properties of phytoplankton cultures, in view of inferring their response to concurrent changes in phytoplankton characteristics such as cell size distributions, and the chlorophyll, carbon and nitrogen content of cells. The underlying assumption is that a better understanding of these relationships could then be applied later to infer biogeochemical information from optical properties as they can be derived from the numerical inversion of satellite ocean color observations.

2. Materials and methods

The species selected for this work (Table 1) are all in the nanoplankton size range and were chosen for their different shapes and pigment compositions, with anticipated impact on their optical properties.

Table 1. Description of the species chosen for the experiments. Numerical values are given as mean \pm standard deviation.

Species	<i>Thalassiosira pseudonana</i> (CCMP 1335)	<i>Dunaliella tertiolecta</i> (CCMP 1320)	<i>Phaeodactylum tricornutum</i> (CPCC 162)	<i>Emiliana huxleyi</i> (CCMP 371)
Taxonomic group	Diatom	Chlorophyte	Diatom	Haptophyte (coccolithophore)
Equivalent spherical diameter (μm)	4.4 ± 0.1	6.0 ± 0.4	4.3 ± 0.1	4.4 ± 0.2
Shape	Cylindrical (centric symmetry) 	Ovoid 	Pennate and oval 	Spherical (covered with coccoliths) 
Chl in cultures ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	150 ± 40	130 ± 40	130 ± 50	80 ± 20
POC in cultures ($\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$)	5 ± 2	4 ± 2	3 ± 2	3 ± 1
Values in the containers used for IOP measurements				
Dilution factor for IOPs	37 ± 1	43 ± 2	43 ± 2	110 ± 20
$b_{\text{bp } 650} (\text{m}^{-1})$	0.0010 ± 0.0004	0.0007 ± 0.0001	0.0005 ± 0.0002	0.005 ± 0.002
$a_{\text{p } 677} (\text{m}^{-1})$	0.04 ± 0.01	0.03 ± 0.01	0.03 ± 0.01	0.01 ± 0.005
$b_{\text{p } 550} (\text{m}^{-1})$	0.9 ± 0.3	0.25 ± 0.06	0.3 ± 0.1	0.4 ± 0.2

Two identical experiments with two species each were conducted. Algae were grown in triplicates at 19 °C in 4 litres of L1 medium [41] (or L1 with nutrients diluted 12 times and without silica to allow *E. huxleyi*'s lith production) for at least 10 generations in semi-continuous cultures, diluted once a day, to reach approximately 100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ of chlorophyll a the following day. The biomass was kept near that maximum value to avoid carbon limitation. Eight fluorescent tubes (Philips #147454 F54T5/865/HO/ALTO, Netherlands) whose spectra were modified towards that of sunlight using “Special Lavender” filter (LEE #137 LEE Filters, United Kingdom) provided growth irradiance. Irradiance was computer-controlled to follow a sinusoidal 12h:12h light:dark cycle with a maximum of 400 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ outside the vessels at 12:00. These irradiance values are higher than those generally used in culture studies, but reflect more closely those encountered those observed in the surface mixed layer.

The sampling was conducted over one day starting one hour before sunrise and ending one hour after sunset. The analyses performed on the samples are described below.

Variable fluorescence was measured after 30 min of dark-acclimation using a 3500 Fluorometer (Photon Systems Instruments, Czech Republic) with a 630 nm LED as the excitation source. Emission was measured through a high-pass 690 nm filter (RG695 filter, Schott, USA) and a 730 nm interference low-pass filter. The results were normalized to rhodamine dye to account for potential instrument drift and culture medium was used for blanks (fluorescence values were the same as the culture filtrate). Fluorescence was measured every microsecond during an 80 μs , 34 000 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ flash providing an induction curve. The F_o and F_m parameters, representing the minimum and maximum values of the fluorescence transient and the absorption cross-section of photosystem II at 630 nm ($\sigma_{\text{PSII}}[630]$, $\text{angstrom}^2 \text{ photon}^{-1}$), were obtained by fitting a fluorescence induction model [42] to the data. F_v is calculated as difference between F_m and F_o . We derived the maximum quantum yield of charge separation at photosystem II by computing F_v / F_m .

Chlorophyll a (Chl) concentrations ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) were determined by fluorometry using the non-acidification method [43]. Chl from injected 0.2 mL samples was extracted in 2 mL of a 3/2 (v/v) acetone 90%/DMSO solution for 15 min [44]. Afterwards, fluorescence was measured using a

Trilogy fluorometer (Turner Designs, USA) fitted with a Chl Non-Acidification Module (Turner Designs, USA) and previously calibrated with a chlorophyll standard.

Cell counts and diameters were measured using a Multisizer 4 Coulter Counter (Beckman Coulter, USA) equipped with a 100 μm aperture tube and calibrated with 5 μm polystyrene beads. Cultures were diluted approximately 100 times (depending on the species) with a twice-filtered 35% NaCl Milli-Q solution before counting.

For carbon (C , $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) and nitrogen (N , $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) concentrations, 25 mm GF75 Glass Fiber filters (Advantec, USA) and 7 mL borosilicate vials were pre-cremated, covered with aluminum foil, at 400 $^{\circ}\text{C}$ for 4 hours to remove any trace of carbon. Then 100 mL culture samples were filtered on the prepared filters and placed in the prepared vials, covered with foil, and left to dry in an oven at 60 $^{\circ}\text{C}$ for a minimum of 8 hours. The vials were then placed in a glass desiccator where the desiccant was replaced by fuming 37 % V/V HCL overnight for decarbonation. Vials and filters were returned to dry in the oven and then stored in cremated aluminum envelopes in vacuum-sealed bags until analysis. Filters were then placed in tin capsules and analyzed in a Fisons - EA-1108 CHNS-O Element Analyzer (Thermo Scientific, USA)

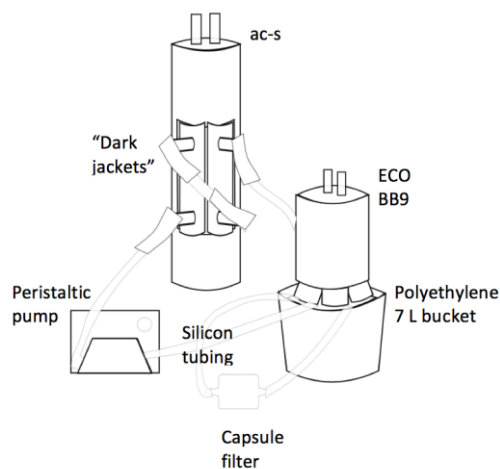


Fig 12. Experimental setup for the optical instruments made up of a 7 L bucket, an ac-s and an ECO BB9 connected by silicone tubing and a peristaltic pump. A recirculation loop with a 0.2 μm capsule filter was used for filtration between sampling time-points.

Optical measurements were done every two hours with the setup illustrated in Fig. 12. A 7-liter black polyethylene resin plastic (Miller Manufacturing, USA) bucket was filled with twice-filtered (0.2 μm Polycap capsule filter, Watman, USA) salt water. Silicone tubing ran between the bucket, a peristaltic pump and an ac-s spectrophotometer (Wet Labs, USA) and returned to the bucket. Dark jackets were installed on the ac-s tubing to prevent light contamination in the instrument. We installed a parallel network with tubing and a 0.2 μm filter Polycap capsule filter (Watman, USA) for filtrations between samplings. An ECO BB9 backscattering meter (Wet Labs, USA, wavelengths: 407, 439, 485, 507, 527, 594, 651, 715, 878 nm) was placed over the bucket, heads in the water, facing down. We tested that the sides of the bucket did not influence the ECO BB9 by checking stability of measurements while moving the instrument around (with filtered water and in the presence of algae). The calibrations were done with polystyrene beads (0.1 μm , NIST, USA) at the Harbor Branch Oceanographic Institute (USA) 7 months before and 5 months after the experiments. We interpolated the two calibration slopes and darks values to obtain the calibration values for our experiments. A few days after the measurement, using the same polyethylene bucket, ECO BB9 measurements on different concentrations of beads were made to validate the calibration slopes exceeding the range of the measurements for phytoplankton. Our calibration was within 0.3-9% of the interpolated factory calibration. The ac-s calibration stability was verified with air and by pumping Milli-Q (Millipore, USA) using the same setup before and after the experiment. Data processing for the ac-s included interpolation of absorption (a) onto attenuation (c) and a temperature-salinity correction from Slade et al. [45].

We poured a volume of the culture sample varying between 50 mL and 200 mL (depending on the scattering of the cultures during previous tests) in the 7 L bucket and lightly but thoroughly mixed the contents and removed any bubbles on the heads of the ECO BB9 by wiping carefully with a squeegee before measuring simultaneously with the ac-s and the ECO BB9. We obtained the total volume scattering function at 124° from the instrument counts using the interpolated calibration values and subtracted the volume scattering function of water of Morel [46] to obtain the volume scattering function of particles (β_p, m^{-1}) at 124° . The backscattering coefficient (b_b, m^{-1}) can be derived by integrating measurements of the volume scattering function (β) over the backward scattering angles, when such measurements are feasible. Here we only measured

$\beta_p(124^\circ)$, and we have used the (χ) factor of Oishi [47]. Therefore, the particulate backscattering coefficient (b_{bp}, m^{-1}) was calculated as

$$b_{bp} = 2\pi\chi\beta_p(124^\circ) \quad (1)$$

where we used 1.076 [48] for the proportionality constant χ .

While the bucket content was filtered between each bi-hourly sampling to return to blank values, this was not done between each sample. Therefore, for each sample, the particulate absorption coefficient (a_p, m^{-1}), the beam attenuation coefficient (c_p, m^{-1}) and b_{bp} of the preceding sample was subtracted to obtain the particulate coefficients of the measured sample.

We calculated ratios to gain more information from our measurements. Carbon per chlorophyll (C/Chl, g/g) and carbon per nitrogen (C/N, g/g) were studied, along with carbon and chlorophyll per cell ($pg \cdot cell^{-1}$). We also calculated the mass specific IOPs including the chlorophyll-specific absorption coefficient ($a_p^{chl}, m^2 mg^{-1}$), beam attenuation coefficient ($a_p^{chl}, m^2 mg^{-1}$) and backscattering coefficient $b_{bp}^{chl} (m^2 mg^{-1})$ and the carbon-specific beam attenuation coefficient ($c_p^C, m^2 g^{-1}$) and backscattering coefficient $b_{bp}^C (m^2 mg^{-1})$. Absorption, scattering, attenuation and backscattering per cell were calculated to obtain the cross-sections ($\sigma_a, \sigma_b, \sigma_c, \sigma_{bb}, m^2 cell^{-1}$).

Percent change from sunrise at time t was calculated as:

$$\Delta b_p(t) = 100 [b_p(t) / b_p(0) - 1]. \quad (2)$$

3. Results and Discussion

3.1 Biological measurements

Growth rates were stable at least the last 5 days before the sampling day: $1.4 \pm 0.07 d^{-1}$ for *T. pseudonana*, $0.85 \pm 0.04 d^{-1}$ for *D. tertiolecta*, $1.08 \pm 0.06 d^{-1}$ for *P. tricornutum* and $0.64 \pm 0.07 d^{-1}$ for *E. huxleyi*. The maximum quantum yield of charge separation at photosystem II (F_v/F_m) varied between 0.42 and 0.61 for all species and showed diel variations, with higher values at the beginning and end of the lit period [Fig. 13] as observed previously on other species [19, 24]. There was a sudden drop in illumination at 20:00 due to a problem in the code managing the lighting system that was found during the analysis of the results. That sharp decrease is not quantitatively important because the cultures were still exposed to a sinusoidal light regime for

most of the day and night. A similar sharp decrease in illumination has incidentally also happened in Stramski and Reynolds [21], where it was due to a wall hiding natural sunlight.

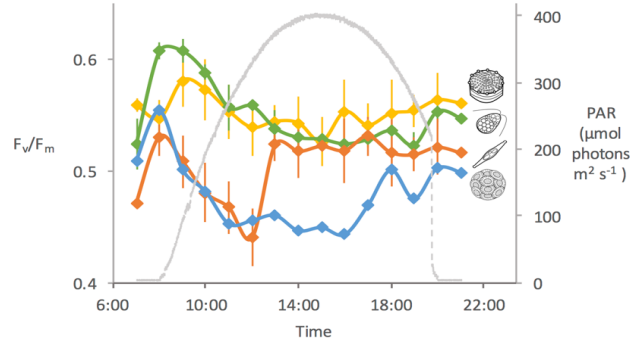


Fig. 13. Diurnal variations of the mean quantum yield of photosynthesis (F_v/F_m) and PAR (gray dashed line, $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$) for the four species: *T. pseudonana* (yellow), *D. tertiolecta* (green), *P. tricornutum* (orange) and *E. huxleyi* (blue). The same color-coding is used throughout the paper. Spline curve fits were added as a visual aid.

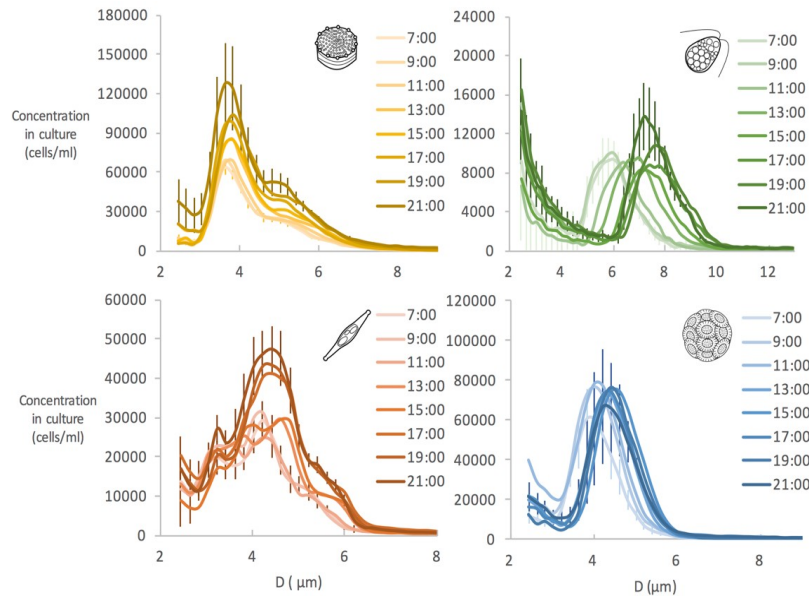


Fig. 14. Diurnal variations of the mean cell size distributions in the cultures, measured with the Coulter Counter, and for the times indicated. Standard deviations (error bars) were added to the 7:00 and 21:00 curves.

Cell size distributions varied during the day. These changes were mostly due to changes in cell concentrations for the diatoms and while changes were mainly in cell diameters for *D. tertiolecta* and to a lesser degree for *E. huxleyi* [Fig. 14]. The shapes of the distributions are coherent with literature [21, 49-51]. Diameters are presented in terms of equivalent spherical diameters. This is particularly important for *P. tricornutum* which has a length to width ratio of approximately 5. Mean cell diameters (D , μm) generally increased by about 10% (20% for *D. tertiolecta*) after sunrise and plateaued at the end of the lit period [Fig. 15]. This was also observed by Stramski and Reynolds [21] on *T. pseudonana*, Durand and Olson [27] for a chlorophyte and DuRand et al. [23] for a prasinophyte. That increase is likely related to the cell cycle. A sudden increase in cell numbers was observed for *P. tricornutum* at 15:00, possibly due to synchronized cell division, as the mean cell diameter showed a decrease at 17:00. Intracellular carbon concentration (C , $\text{pg}\cdot\text{cell}^{-1}$) increased for all species, while the chlorophyll a concentration (Chl , $\text{pg}\cdot\text{cell}^{-1}$) also increased with a maximum in the late afternoon for diatoms, was stable for *D. tertiolecta* and decreased in the morning, followed by an increase for *E. huxleyi*. A daytime increase is present for C/Chl and C per nitrogen (C/N) (g/g) ratio. The values and shapes of diurnal variations for *T. pseudonana* are similar to the results of Stramski and Reynolds [21].

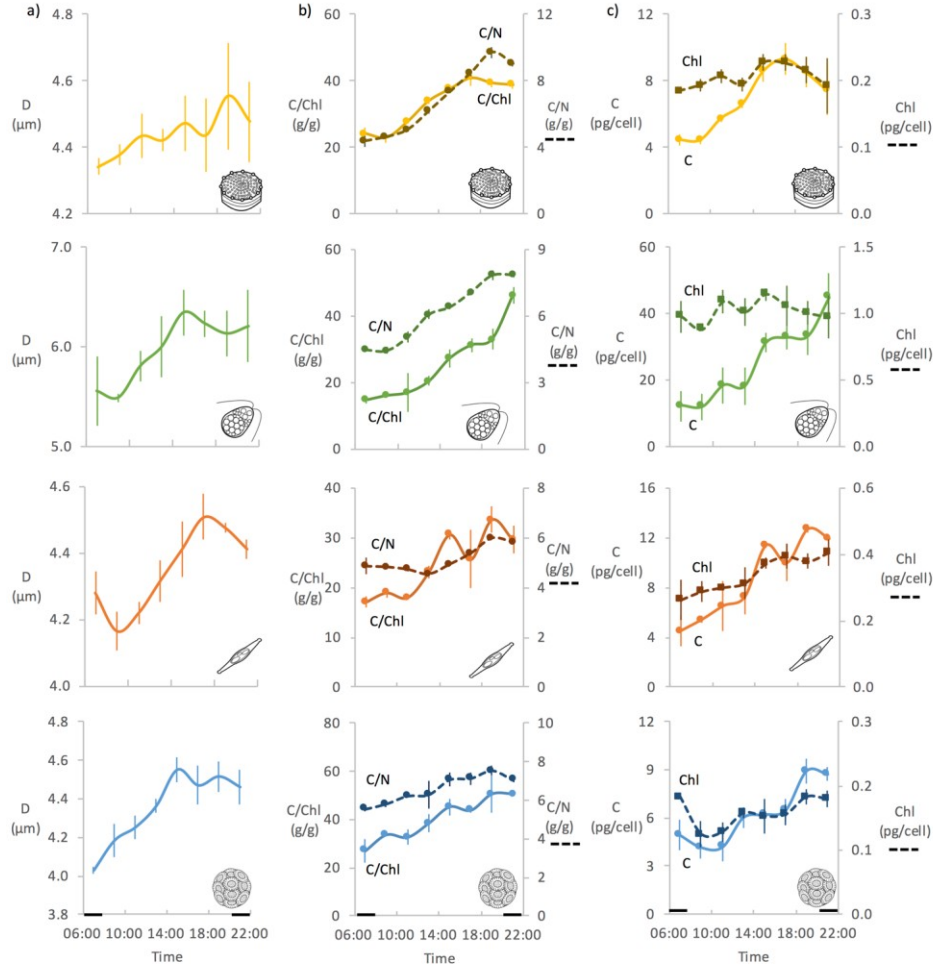


Fig. 15. Diurnal variations of the mean and standard deviations (error bars) of a) cell diameter, b) C/Chl (g/g, solid line) and C/N (g/g, dashed line) and c) intracellular C ($\text{pg}\cdot\text{cell}^{-1}$, solid line) and Chl ($\text{pg}\cdot\text{cell}^{-1}$, dashed line). Spline curve fits were added as a visual aid. Dark bars on x axis represent the dark period of the day. Results from top to bottom are for: *T. pseudonana*, *D. tertiolecta*, *P. tricornutum* and *E. huxleyi*.

3.2 Optical properties

Absorption values were likely slightly contaminated by light passing through the dark jackets installed on the tube attached to the absorption tube of the ac-s in our setup. The movement of these jackets caused results to appear noisy, mostly in the blue wavelengths (up to about 450 nm, see Fig. 16(a)). Averages over about 1 minute show coherent absorption spectra for the other wavelengths, while the shorter wavelengths show significant changes in shape with sampling

time that are likely originating from light leaks. We grayed out the shorter wavelengths of a_p and b_p for this reason, although the impact on b_p is very small.

The spectral shapes of a_p , b_p and c_p [Fig. 16] did not vary much throughout the day for all species, except for *T. pseudonana* and *D. tertiolecta*, whose b_p and c_p spectra showed a significant reddening of the spectra with time of day. Values of a_p increased during the day for all species. b_p and c_p [Fig. 17] increased during the day for most species, except for *E. huxleyi* for which there was a plateau from 11:00. These observations are consistent with the observed increases in c_p of nanoplankton in nature that have been observed by Durand and Olson [32].

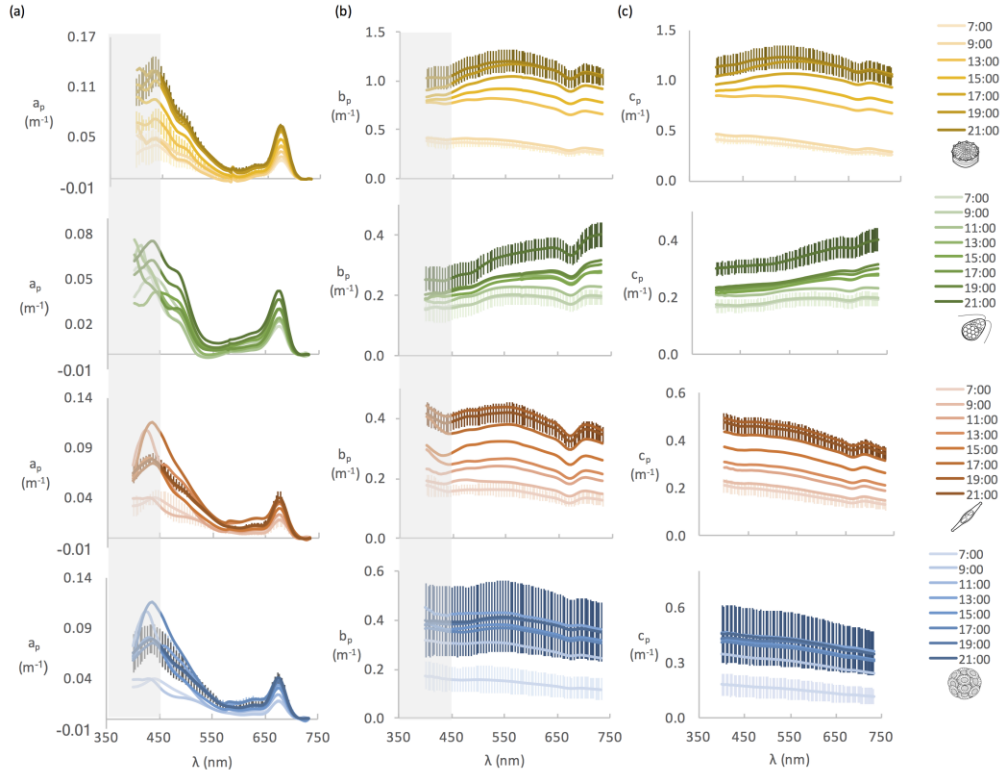


Fig. 16. Diurnal variations of a) particulate absorption coefficient (a_p , m^{-1}), b) particulate scattering coefficient (b_p , m^{-1}) and, c) particulate beam attenuation coefficient (c_p , m^{-1}) at different times of the day (see legend). The standard deviations (error bars) are only displayed for 7:00 and 21:00 when available. Results from top to bottom are for: *T. pseudonana*, *D. tertiolecta*, *P. tricornutum* and *E. huxleyi*.

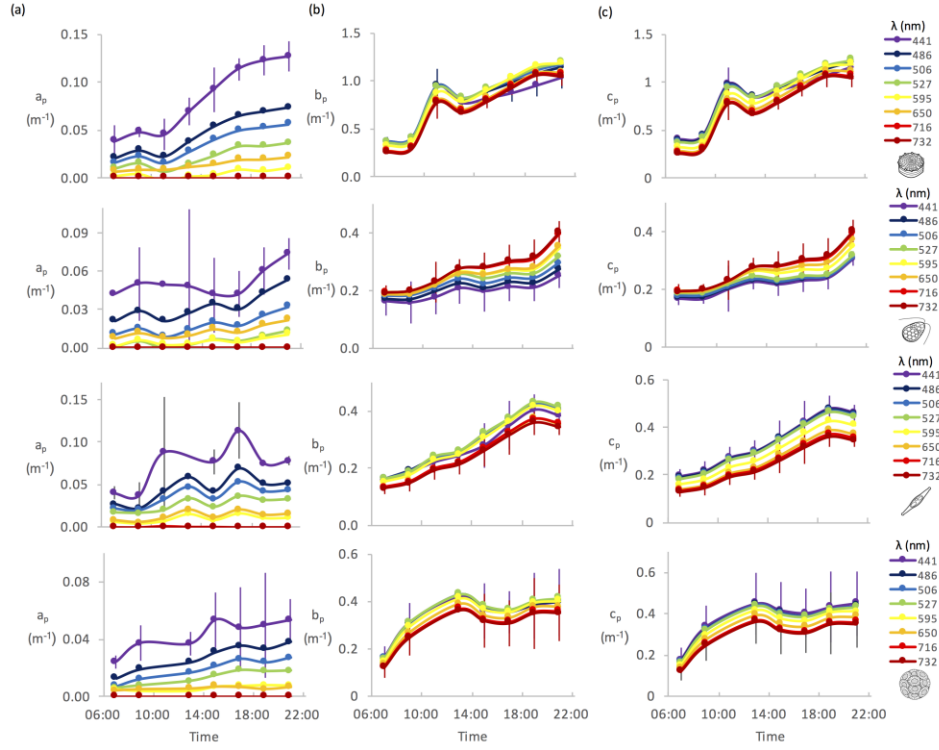


Fig. 17. Diurnal variations of the mean a) particulate absorption coefficient, b) particulate scattering coefficient, c) particulate beam attenuation coefficient for the wavelengths indicated. The standard deviations (error bars) are only displayed for 441 and 732 nm. Results from top to bottom are for: *T. pseudonana*, *D. tertiolecta*, *P. tricornutum* and *E. huxleyi*. Spline curve fits were added as a visual aid.

No diurnal directional changes were observed for the a_p^{Chl} values as error bar overlap for most measurements [Fig. 18(a)], indicating that diurnal variations of a_p are linked to an increase in pigments concentration in the culture with growth, as expected [21, 23, 29]. The c_p^{Chl} has shown some variability and approximately doubled for *T. pseudonana* and *E. huxleyi* [Figure 18(b)] during the day, and remained more stable than c_p^{C} , except for *T. pseudonana*. The mean c_p^{Chl} and c_p^{C} obtained in our experiment for *T. pseudonana* ($\lambda = 673$ and 600 nm respectively) are comparable to the results published by Stramski and Reynolds [21]. c_p^{C} [Fig. 18(c)] showed an average of $3.9 \pm 1.5 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ *D. tertiolecta*. Its value decreased by approximately 66% during the day. This contrasts with the observations of Durand and Olson [27] on *Nannochloris*, where they

observed an increase of up to 25% during the day and by Durand et al. [23] on another chlorophyceae species, *Micromonas pusilla*, where an increase of 30% with an average of $2.9 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ was noted. *P. tricornutum* showed an average of $3.76 \pm 0.78 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ with a morning increase, but an overall decrease of 33% for the day. *E. huxleyi*'s c_p^C had an average of $10.0 \pm 1.5 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ and remained mostly constant with a 20% morning increase followed by an equivalent decrease. A similar pattern was observed for *T. pseudonana* with an average of $4.94 \pm 0.52 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$. Stramski and Reynolds [21] noted an absence of a clear diel pattern for c_p^C for *T. pseudonana* and an average of $3.81 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ for their entire diel experiment. They also noted that c_p^C at 660 nm almost doubled during the day for *Synechococcus* [29]. Our results together with those of Durand and Olson [27], Stramski and Reynolds and Stramski et al. [21, 29] indicate that there can be significant diurnal variations in c_p^C and that clear differences occur between species. This has important implications for estimating primary productivity, where c_p^C has been assumed to be constant and close to $3.92 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ [30], which is likely an oversimplification (e.g., Cullen et al. [31]). We also observed that the interspecific variability related to cell size was greater than the diel variability, as shown by Durand et al. [23]. Our species were larger than those presented in Durand et al. [23] from other studies [21, 27, 29, 52], and the relationship between c_p^C and the effective cell diameter (as calculated in [21, 23, 27 and 29]) can be fitted by logarithmic function of effective diameter [Fig. 19]. *E. huxleyi* is a clear outlier to this function, however, likely due to the very refractive calcite liths that cover the cells and the fact that our decarbonation of the POC samples removed these calcite shells and therefore only the organic carbon was measured, thus increasing their c_p^C .

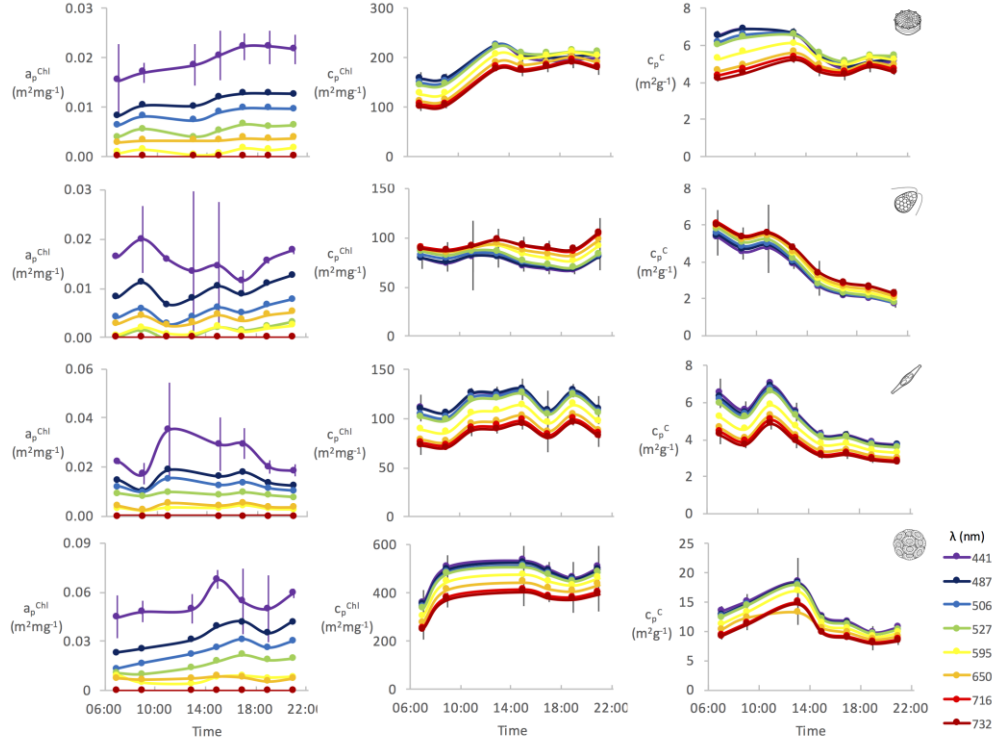


Fig. 18. Diurnal variations of the mean spectral a) chlorophyll-specific particulate absorption coefficient (a_p^{Chl} , $\text{m}^2 \text{mg}^{-1}$), b) chlorophyll specific particulate beam attenuation coefficient (c_p^{Chl} , $\text{m}^2 \text{mg}^{-1}$), c) carbon specific particulate beam attenuation coefficient (c_p^{C} , $\text{m}^2 \text{g}^{-1}$) for the wavelengths indicated. The standard deviations (error bars) are only displayed for 441 and 732 nm when available. Results from top to bottom are for: *T. pseudonana*, *D. tertiolecta*, *P. tricornutum* and *E. huxleyi*. Spline curve fits were added as a visual aid.

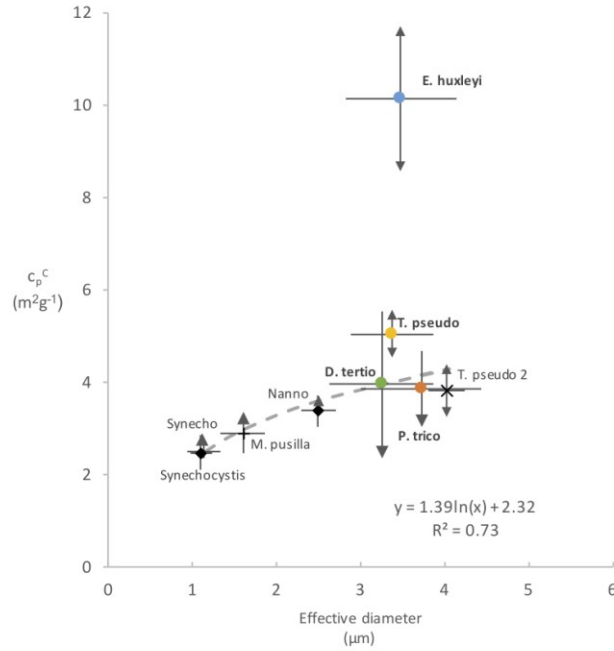


Fig. 19. Relationship between the carbon-specific beam attenuation coefficient ($c_p^C \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$), and effective cell diameter (μm) for nine phytoplankton species, including the four studied in this paper (colored symbols), plus *Synechococcus* (Stramski et al., 1995) [27], *Synechocystis* (Stramski and Morel, 1990) [49], *Micromonas pusilla*, [21] (Durand et al., 2002), *Nannochloris* *sp.* (Durand and Olson, 1998) [25] and *Thalassiosira pseudonana* 2 (Stramski and Reynolds, 1993) [19]. For each point the mean and standard deviations (error bars) over the diel cycle is shown with an arrow indicating direction of the change for c_p^C , except for *Synechocystis* for which the mean of seven different irradiances is shown. c_p^C is at 550 nm except for *Synechocystis* (660 nm).

Spectral shapes of absorption, scattering and attenuation cross-sections (σ_a , σ_b and σ_c , $\text{m}^2 \text{ cell}^{-1}$) [Fig. 20] were consistent during the day for *P. tricornutum* and *E. huxleyi*. The spectral shapes of σ_b and σ_c for *T. pseudonana* and *D. tertiolecta* showed a daily increase of the red compared to the blue part of the spectrum, as was seen in b_p and c_p [Fig. 16]. The values were similar to Stramski and Reynolds' [21] for *T. pseudonana*, though they did not observe the same shift in shape that we have.

Values of σ_a showed an increase, especially in the shorter wavelengths, only for *T. pseudonana* as seen by Stramski and Reynolds' [21], Ackleson et al. [53] and Mas et al. [54]. Ragni and

Ribera d'Alcalà [55] had observed clearer diurnal variations for *P. tricornutum*, but similar values. σ_b and σ_c showed clear diurnal increases for the diatoms only (*T. pseudonana* and *P. Tricornutum*) [Fig. 20]. The measurements for *P. tricornutum* and *D. tertiolecta* also had a relatively large amount of variation, as shown by the error bars, that likely caused the appearance of bumps in the measurements. This increase indicates that b_p and c_p 's diurnal increases are not only attributable to cell numbers. Diurnal variations and values for *T. pseudonana* were similar to Stramski and Reynolds' [21] and to Durand and Olson [27] on a chlorophyte, for *D. tertiolecta* and Ackleson et al. [53] for *E. huxleyi*. It is worth noting that we included the entire particle size distribution to calculate the cross-sections, so it represents all the particles present in the optical and Coulter Counter measurements, possibly including some non-phytoplanktonic cells.

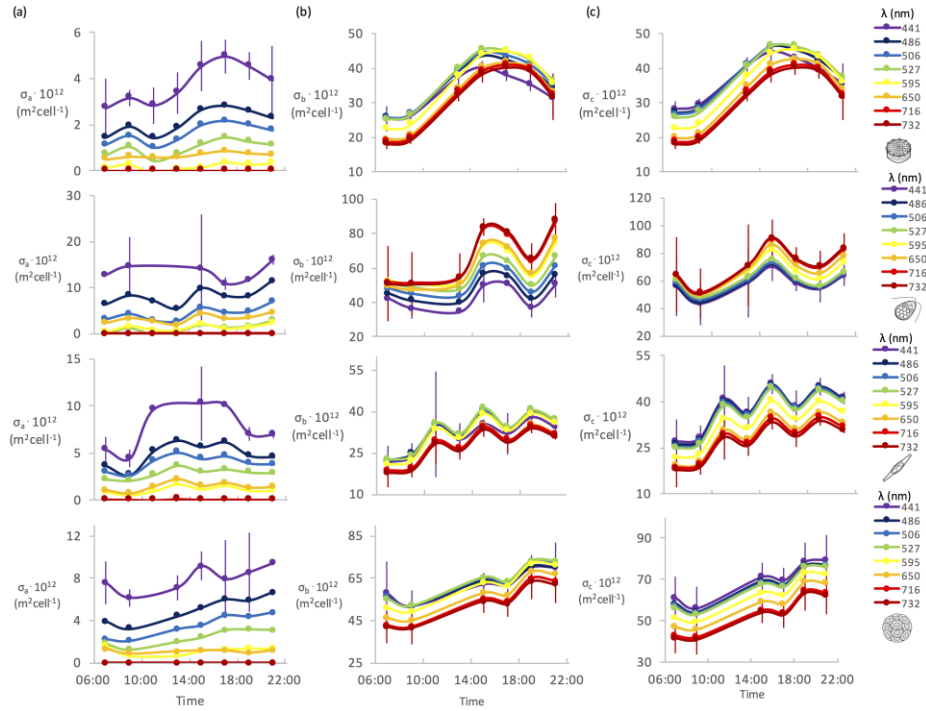


Fig. 20. Diurnal variations of the mean a) particulate absorption cross-section (σ_a , $\text{m}^2 \text{ cell}^{-1}$), b) particulate scattering cross-section (σ_b , $\text{m}^2 \text{ cell}^{-1}$), c) particulate attenuation cross-section (σ_c , $\text{m}^2 \text{ cell}^{-1}$) for and the wavelengths indicated in the legend. The standard deviations (error bars) are only displayed for 441 and 732 nm when available. Results from top to bottom are for: *T. pseudonana*, *D. tertiolecta*, *P. tricornutum* and *E. huxleyi*. Spline curve fits were added as a visual aid.

The blue head of the ECO BB9 (λ 407 nm, 439 nm, 485 nm) gave much noisier results than the other two. A significant drift had been observed with the sensors from the blue head during the last calibration before ours at the Harbor Branch Institute, which indicated it was perhaps nearing the end of its useful life. These data were removed from the analysis except for *E. Huxleyi* where the results showed consistency with the other wavelengths.

The b_{bp} increased by 50% to 200% during the day, depending on the species and wavelength [Fig. 21]. The σ_{bb} were stable for *T. pseudonana*, *D. tertiolecta* and *P. tricornutum* [Fig. 22], suggesting mostly an influence of biomass (C and cell numbers) on the diurnal variation while changes in the backscattering efficiency per cell have minimal impact. The carbon specific backscattering (b_{bp}^C) [Fig. 22] decreased during the day for *T. pseudonana*, *D. tertiolecta* and *P. tricornutum*. Depending on the storage (lipids, sugars, or other), addition carbon in the cell should modify the index of refraction (or size of the cells) up or down. In this case, it is clear that despite large changes in the carbon per cell, the additional carbon added reduced the backscattering efficiency per unit carbon and did not alter the scattering per cell. This is consistent with the added carbon having little effect on the existing scattering of the cells; the relative decrease in b_{bp}^C being almost equal to the relative increase in carbon per cell (Fig.15). For *E. huxleyi*, the calcite liths enhance backscattering, so that a higher in σ_{bb} was observed. The values were in the range of those observed by Balch et al. [56].

Overall our results for the backscattering ratio ($b_{bp}/b_p(\lambda)$) [Fig. 21(b)] are comparable to those obtained by Whitmire et al. (2010) [57] for *T. pseudonana*, *D. tertiolecta* and *P. tricornutum* (*E. huxleyi* was not studied in Whitmire et al. [56]). Ahn and Bricaud [58] observed similar values as ours for *D. tertiolecta* for another chlorophyceae, *Dunaliella bioculata*. Their backscattering ratios were, however, lower for *E. huxleyi*, which they grew in nutrient replete medium, while we kept nutrients at lower levels ensuring coccolith production [58]. It is likely that our increased backscattering ratio is due to the presence of coccoliths. Zhou et al. [59] observed a similar backscattering ratio for *T. pseudonana*, but a larger one for *D. tertiolecta*, but their cells were almost twice the size of ours so differences are expected. While the backscattering ratio for *D. tertiolecta* and *E. huxleyi* remained mostly constant throughout the day, it decreased by a factor of about 2 for the diatoms. For all species except *E. huxleyi*, the decreasing carbon specific backscattering coefficient b_{bp}^C ($m^2 mg^{-1}$) with time of day lead to reduced sensitivity of the

backscattering coefficient to measuring diel increases in the algal carbon concentration in the water compared with the scattering coefficient (compare the diel increase of b_{bp} in Fig. 21 with b_p Fig. 17). This is particularly obvious with *P. Tricornutum* where b_{bp} hardly increased during the day and b_p increased by a factor of ~ 2 . This could in part arise from the fact that a larger background of small particles is affecting the backscattering and therefore the increase in the backscattering due to algae is hidden, but the cell size distributions do not seem to indicate this.

The chlorophyll-specific backscattering coefficient b_{bp}^{chl} ($m^2 mg^{-1}$) appeared mostly stable during the day [Fig. 22(b)], except for a daily increase for *E. huxleyi*. Our values of b_{bp}^{chl} of *E. huxleyi* were higher than those of Ahn and Bricaud [58], because of our increased b_{bp} due to the presence of coccoliths [60]. Their values for a chlorophyceae are in the same range as our values for *D. tertiolecta*.

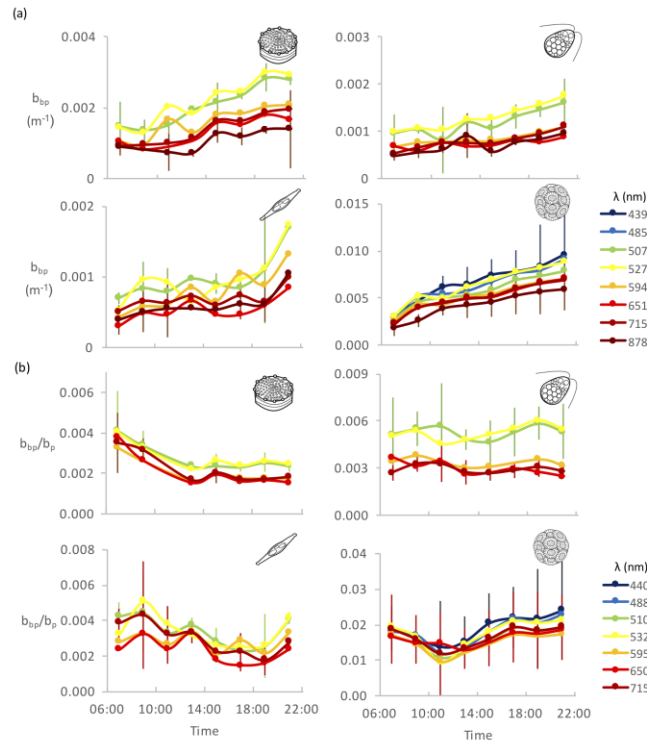


Fig. 21. Diurnal variations of a) the mean particulate backscattering coefficient (b_{bp} , m^{-1}) for the wavelengths indicated and b) the mean backscattering ratio for the wavelengths available from the ECO BB9 and their nearest from the ac-s (in the legend). The standard deviations are only displayed for 440 nm and 715 nm. Results from top to bottom are for: *T. pseudonana*, *D. tertiolecta*, *P. tricornutum* and *E. huxleyi*. Spline curve fits were added as a visual aid.

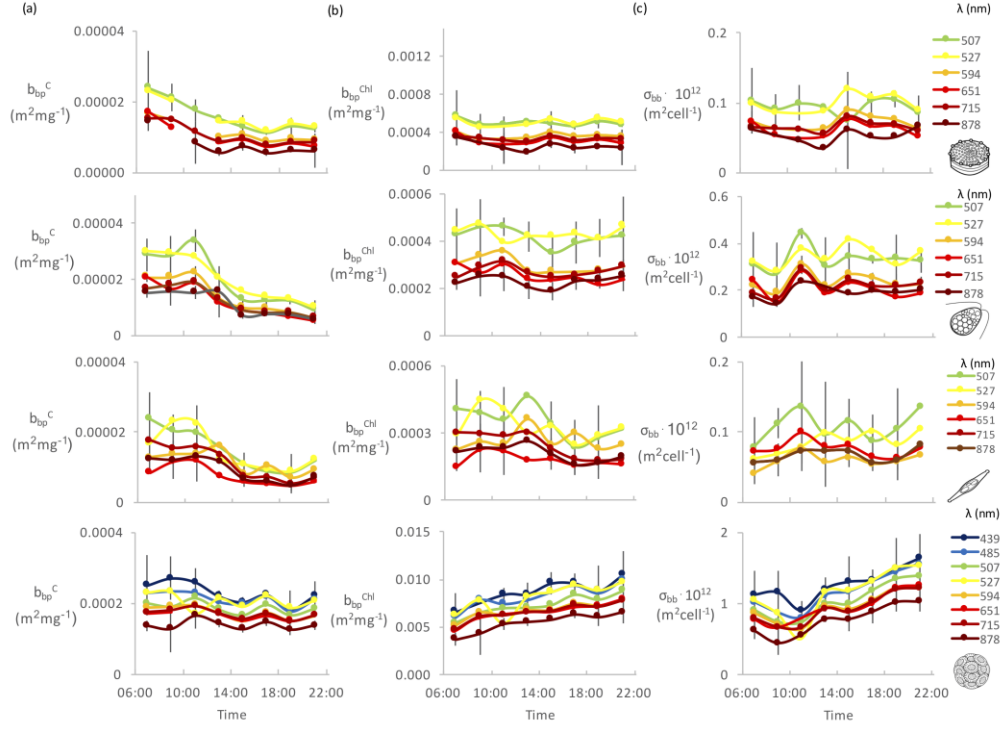


Fig. 22. Diurnal variations of a) the mean C specific particulate backscattering coefficient (b_{bp}^C , $m^2 mg^{-1}$), b) Chl specific particulate backscattering coefficient (b_{bp}^{Chl} , $m^2 mg^{-1}$) and c) particulate backscattering cross-section (σ_{bb} , $m^2 cell^{-1}$) for the wavelengths indicated. Standard deviations (error bars) are only displayed for $\lambda=507$ and 878 nm (439 and 878 nm for *E. huxleyi*). Results from top to bottom are for: *T. pseudonana*, *D. tertiolecta*, *P. tricornutum* and *E. huxleyi*. Spline curve fits were added as a visual aid.

Table 2. Correlation coefficients (r^2) of c_p 716 (m^{-1}) and b_{bp} 715 (m^{-1}) (to avoid the effect of absorption) with cell concentration (n cell, ($Cell \cdot m^{-3}$)), carbon content ($\mu g \cdot L^{-1}$) and ($\mu g \cdot cell^{-1}$), cell diameter (μm) and Chl concentration ($\mu g \cdot L^{-1}$) and ($\mu g \cdot cell^{-1}$). (Correlation coefficients larger than 0.50 in bold.)

		n cell ($Cell \cdot m^{-3}$)	C ($\mu g \cdot L^{-1}$)	C ($\mu g \cdot cell^{-1}$)	Cell diameter (μm)	Chl ($\mu g \cdot L^{-1}$)	Chl ($\mu g \cdot cell^{-1}$)	c_p 716 nm (m^{-1})
<i>T. pseudonana</i>	c_p 716 nm (m^{-1})	0.60	0.80	0.59	0.29	0.80	0.14	-
	b_{bp} 715 nm (m^{-1})	0.55	0.68	0.43	0.14	0.72	0.07	0.45
<i>D. tertiolecta</i>	c_p 716 nm (m^{-1})	0.20	0.81	0.51	0.26	0.81	0.06	-
	b_{bp} 715 nm (m^{-1})	0.06	0.66	0.60	0.23	0.39	0.08	0.51
<i>P. tricornutum</i>	c_p 716 nm (m^{-1})	0.59	0.95	0.65	0.51	0.87	0.44	-
	b_{bp} 715 nm (m^{-1})	0.17	0.09	0.03	0.01	0.16	0.05	0.11
<i>E. huxleyi</i>	c_p 716 nm (m^{-1})	0.55	0.81	0.29	0.14	0.77	0.03	-
	b_{bp} 715 nm (m^{-1})	0.54	0.94	0.36	0.16	0.86	0.06	0.79

The particulate backscattering coefficient, b_{bp} , was correlated mostly with C concentration (Table 2), except for *P. tricornutum*, which showed no such correlation. For *E. huxleyi*, the carbon specific backscattering coefficient was stable during the day and b_{bp} was also strongly correlated with C ($\mu\text{g/L}$) ($r^2 = 0.94$, Table 2), more than c_p ($r^2 = 0.81$). For the other species, c_p showed a stronger correlation with biomass indicators (C and Chl per volume) than b_{bp} . The correlation of b_{bp} with c_p is weaker than observed in nature [37, 61, 62] except for *E. huxleyi*, but these studies were conducted over large gradients and not over a day.

The relative daily changes, Δc_p , Δb_p and Δb_{bp} are all positive [Fig. 23], Δb_{bp} is roughly a factor 2 lower than Δc_p and Δb_p , for all species except for *E. huxleyi*, where Δb_{bp} is higher than Δb_p from midday. The shapes of the variations were similar, except for *E. huxleyi*, where the Δc_p and Δb_p plateaued from midday whereas Δb_{bp} increased throughout the day. Δc_p and Δb_p are much larger than observed in nature, except during bloom conditions when similar values are found [40]. Loisel et al. [39] observed that b_{bp} maxima occurred 3 or 6 hours later than those of c_p . They also noticed relative daily increases were slightly lower for b_{bp} than c_p , but their values were much lower than ours (20-17% for c_p and 13% for b_{bp}), which is expected in nature due to the presence of a higher background of small particles.

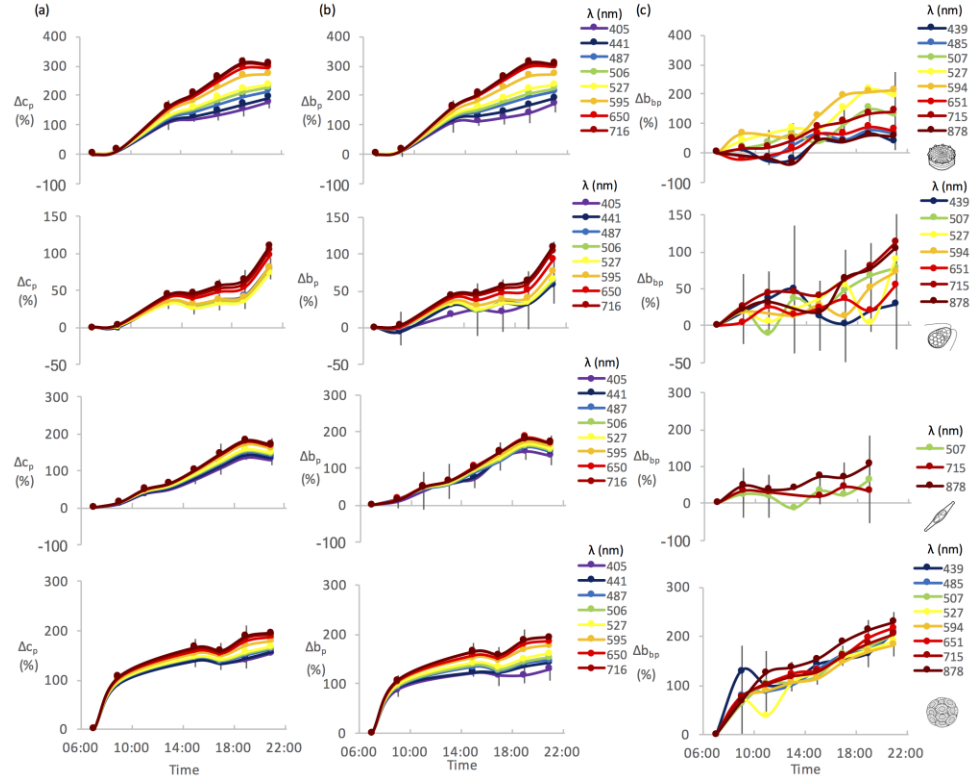


Fig. 23. Diurnal variations of the relative variation from sunrise for a) the particulate beam attenuation coefficient (Δc_p , %) coefficient b) the particulate scattering coefficient (Δb_p , %) and c) particulate backscattering coefficient (Δb_{bp} , %) for the wavelengths indicated. Standard deviations (error bars) are only displayed for 439 and 878 nm (507 and 878 nm for *P. tricornutum*). Results from top to bottom are for: *T. pseudonana*, *D. tertiolecta*, *P. tricornutum* and *E. huxleyi*. Spline curve fits were added as a visual aid. For *P. tricornutum*, Δb_{bp} was extremely noisy for most wavelengths and thus removed from the analysis.

Discussion

2.1. Comparison with the literature

The values and diel changes we obtained for *T. pseudonana* were comparable to what Stramski and Reynold's [21] obtained for the same species, in terms of intracellular carbon and chlorophyll concentration, absorption, scattering and attenuation cross-section. The only notable difference was that we observed a shift in the shape of scattering spectrum. They also did not measure backscattering.

Whitmire et al. [57] studied backscattering properties for many species, including *T. pseudonana*, *D. tertiolecta* and *P. tricornutum*. They obtained values that were similar to ours for the backscattering ratios and cross-sections. Their values for b_{bp}^{chl} were lower than ours, likely because they used a lower illumination ($100 \mu\text{mol photons m}^2 \text{s}^{-1}$ vs to $400 \mu\text{mol photons m}^2 \text{s}^{-1}$ here), leading to a higher intracellular chlorophyll concentration [e.g. 63].

Durand et al. [23] measured the diel variations of optical properties of a prasinophyte, which cannot be directly compared to our species. They noted similar increases in cell diameter and optical properties, but no the decrease in c_p^C we observed for *D. tertiolecta*.

Ahn and Bricaud [58] studied backscattering properties of various species, including *E. huxleyi*. Their values for backscattering were lower than ours but, as discussed, we used a lower nutrient-content medium to ensure coccolith production that they did not use, so the differences are likely due to the absence of coccoliths in their cultures.

Overall, our results agree with comparable results from the literature. When they do not, the disagreements appear to arise from the different culture conditions.

2.2. Backscattering coefficients measurements

Since we used a single χ value from theory instead of measuring it on our cultures, it can be a source of error in the estimated b_{bp} values. Whitmire et al. [57], Chami et al. [64] and Harmel et al. [65] reported χ values at 120° in cultures varying from approximately 1 to 1.2, which would cause an increase of up to 12% in our b_{bp} values. Tan et al. [66] reported χ values of up to 1.8 for $\beta_p(120^\circ)$ in cultures, but so far, that study is the only reporting such high values, with most studies finding values near 1.1 (see Harmel et al. [65]). The χ values have also been shown to

vary between species (Harmel et al. [65], Whitmire et al [57], Tan et al. [66]). This was not considered here when we calculated b_{bp} with a unique χ value. Since χ is only a scaling factor, all b_{bp} values presented here could easily be scaled for any other χ . Since our focus is on the diel changes, a more important question is whether χ could change significantly with time of day for one species. If so, this could alter our conclusion with respect to b_{bp} . Diel measurements of complete volume scattering functions in the future would permit addressing this question. In any case, the relative changes reported for b_{bp} reflect the changes for $\beta_p(124^\circ)$.

We took the outmost care to prevent contamination of our cultures by working in sterile conditions and sterilizing the culture medium. To further avoid the small particles from accumulating in the cultures, we diluted the culture daily with 0.2 μm filtered media. However, small detrital particles are always present in cultures. We could not measure particles with a diameter smaller than 2.4 μm . However, the particle size distributions from the Coulter Counter show an increasing number of particles in the smaller size classes with about 20,000 particles/ml at 2.4 μm for all cultures. We subtracted blanks obtained from the Coulter Counter's isotonic dilution solution, such that we know that these particles were present in the cultures. Measurement of blanks (or previous sample) in the measurement container removed the impact of particles present in filtered media used during the measurement. The presence of small particles could enhance measurements of optical properties, particularly backscattering, but it is unlikely that they would influence the diel variations we observed.

2.3. *Potential impact on optical observations from space*

This study shows that clear diel variations in the particulate backscattering coefficient can be observed on cultures in the laboratory, indicating that phytoplankton are likely responsible for part of the diel variations of b_{bp} observed in the ocean [40]. There is increasing interest in measuring these diel changes as it could be used to estimate the photosynthetic carbon accumulation remotely in the upper ocean in similar way to previous studies with c_p [e.g. 12, 26, 27, 36].

However, the fractional contribution of the phytoplankton backscattering to the total particulate backscattering in the ocean remains unclear and is likely dependent on growth conditions. Furthermore, our observation show that while we observed very strong correlation with

particulate carbon in some species (*E. huxleyi*), very low correlation was observed with another (*P. tricornutum*); correlation between carbon and c_p were high for all species. Clearly the applicability of our results to in situ and remote sensing observations of b_{bp} diel changes will require further work to understand under which conditions backscattering measurements can be used as a proxy for carbon accumulation in the ocean.

Conclusion

We observed diel increases in absorption, beam attenuation and scattering. Our observations with respect to absorption and beam attenuation were consistent with previous studies; the use of the ac-s allowed a greater spectral resolution, but this added limited new insights into the daily changes (though spectral effects do occur). We showed that the carbon-specific beam attenuation coefficient varies during the day and more importantly between species, which has important implications for primary productivity estimations where c_p^C has been assumed to be constant.

The differences between species observed for many of our optical and biological measurements highlights the importance of considering the community structure when studying phytoplankton from optical measurements, especially in presence of coccolithophores, which were often clear outliers.

Our study was the first to study diurnal variations of b_{bp} in cultures, and the observed diurnal increases support the hypothesis that phytoplankton partly drive the diurnal increases in b_{bp} observed in nature. Observations have also shown that the scattering cross section tended to increase during the day along with the carbon specific scattering coefficient. However, the carbon specific backscattering coefficient tended to strongly decrease during the day while the backscattering cross-section remained constant. This result highlights that extreme care should be taken when using diel changes in backscattering as a surrogate for diel changes in scattering, when the latter are to be used to quantify phytoplankton production in the ocean. More specifically, for c_p , the cross section tended to increase while the carbon specific backscattering decreased. What has been learnt from the abundant literature on the diel changes in the scattering coefficient may not be directly applicable to interpretation of the backscattering coefficient.

However, these results overall suggest that particulate backscattering provides a cell-specific measure when phytoplankton are a significant source of backscattering.

This study also reaffirms that the observation of diurnal variations of optical properties of phytoplankton can give us valuable insights in understanding the biological and bio-optical processes that occur in the ocean. Modeling work will be necessary to tease apart the possible origins of these differences and could help with the interpretation of diurnal patterns in the backscattering coefficient as potentially observed from ocean color satellite remote sensing.

Funding and acknowledgments

Funding

The FRQNT, NSERC and Canada research Chair program funded this research.

Acknowledgments

We thank Gabriel Diab, Pascale Roy, Tara Tapics, Simon Meilleur-Lacasse, Jennifer Marie-Rose Vandenhecke, Patrick Cliche, Dominic Bélanger, Dominique Marie and Marieke Beaulieu for their precious help before and during the experiments. We are indebted to Emmanuel Boss for loaning the ac-s and ECO-BB9 used and comments, Marie-Hélène Laprise for sharing the flow cytometer and Zbigniew Kolber for loaning the FRRF fluorimeter. Thanks to Darius Stramski, Mike Twardowski and Malika Kheireddine and an anonymous reviewer for their valuable comments on this work.

6. Résultats : Diurnal variations of the attenuation, backscattering and absorption coefficients of 4 phytoplankton species and comparison with spherical, coated spherical and hexahedral particle optical models

Afin de mieux comprendre quels facteurs influencent les propriétés optiques de nos cultures, nous avons utilisé des modèles de diffusion de la lumière. Nous avons utilisé trois modèles de particules pouvant être vus comme des « extrêmes ». Un modèle de particule sphérique homogène représentant un extrême de simplicité de forme et de structure de cellules. Le modèle utilisé comme extrême de forme complexe est le modèle de particules hexahédrales. Enfin, le modèle de structure interne complexe est le modèle sphérique recouvert d'une couche.

Les distributions de tailles de particules mesurées lors des expériences ont été utilisées en entrée des modèles. Nous avons estimé des variations journalières des indices de réfraction réels et imaginaires en fonction des concentrations intracellulaires de carbone et de chlorophylle.

Cela nous a permis à la fois de mieux comprendre les facteurs qui influencent les variations journalières des propriétés optiques de nos cultures et les facteurs qui ont une influence sur l'applicabilité des modèles de diffusion au phytoplancton. En effet, nous avons démontré que l'ajout d'une couche externe dans le modèle de particule sphérique permet d'obtenir des valeurs de rétrodiffusion équivalentes aux mesures. Nous avons aussi observé que les facteurs liés à la couche externe sont ceux qui ont le plus d'influence sur la rétrodiffusion. Cela montre que le phytoplancton peut être responsable d'une partie plus significative de la rétrodiffusion que généralement admis lorsqu'il domine les particules. Des études en mer seront nécessaires pour savoir si cela est le cas dans le milieu naturel.

Nous exposons cette partie de l'étude dans l'article « *Diel variations of the attenuation, backscattering and absorption coefficients of four phytoplankton species and comparison with spherical, coated spherical and hexahedral particle optical models* » publié en ligne en juin 2018 dans le *Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer*

.

Titre français

Les variations journalières des coefficients d'atténuation, de rétrodiffusion et d'absorption de quatre espèces de phytoplancton et leur comparaison avec des modèles optiques de particules sphériques homogènes, sphériques munies d'une couche externe et hexaédrales homogènes.

Auteurs

Carina Poulin, Xiaodong Zhang, Ping Yang et Yannick Huot

Revue

Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer

Dates de soumission et de publication

Article soumis le 10 avril 2018 et publié en juin 2018.

6.1 Article

Title Page

Title: Diel variations of the attenuation, backscattering and absorption coefficients of four phytoplankton species and comparison with spherical, coated spherical and hexahedral particle optical models

Authors:

Carina Poulin¹, Xiaodong Zhang², Ping Yang³, and Yannick Huot¹

carina.poulin@usherbrooke.ca, zhang@aero.und.edu, pyang@tamu.edu,

yannick.huot@usherbrooke.ca

Corresponding author: Carina Poulin, carina.poulin@usherbrooke.ca, Université de Sherbrooke, 2500, boulevard de l'Université, Sherbrooke (Québec), Canada, J1K 2R1.

1: Université de Sherbrooke,

2500, boulevard de l'Université

Sherbrooke (Québec), Canada

J1K 2R1

2: University of North Dakota,

Clifford Hall Room 326,

4149 University Ave Stop 9011

Grand Forks, ND 58202-9011

3: Texas A&M University

Department of Atmospheric Sciences

TAMU-3150

College Station, Texas 77843

Competing interests statement: none

Abstract

Diel variations of inherent optical properties (absorption coefficient, attenuation coefficient and volume scattering function at 124 degrees) of four species of phytoplankton were measured in the laboratory and were simulated using a homogeneous spherical model, a coated spherical model and a homogeneous hexahedral model. The required inputs to run each optical model were acquired from the measurements; the real and imaginary parts of the refractive index were determined from the intracellular carbon and absorption coefficient, and particle size distributions from the Coulter counter. We conducted a sensitivity analysis on the inherent optical properties in response to changes in the slope of Junge distributions that were used to represent non-phytoplankton particles of radii less than 1.12 μm (the minimum size of the Coulter counter), realistic maximum and minimum values of the refractive indices used for the shell and core, shell thickness, cell radius and the number of cells. We found that the shell's refractive index is the most important factor influencing the backscattering ratio. We found that the coated spherical model reproduced the observed optical properties best for all species possessing a shell. The hexahedral and homogenous spherical models give relatively good results for the absorption and attenuation coefficients; but underestimated the volume scattering function at 124 degrees. Correlations between the measured backscattering cross sections and carbon are significant only for *E. huxleyi* and *D. tertiolecta*. In situ measurements will be necessary to determine if our models can reproduce the diel variations of backscattering that are observed in the ocean.

Keywords: Phytoplankton, optical properties, backscattering, attenuation, models, spherical, coated, hexahedral, diel variations, diurnal

1. Introduction:

Phytoplankton are responsible for close to half of the world's primary production[1]. They are ubiquitous in all surface waters of the world, making remote sensing the only tool amenable to their monitoring at the global scale. This is generally done by measuring the reflectance of the water in the visible wavelengths. The reflectance, in turn, is determined by the inherent optical properties (IOPs) of the water and the observation conditions and geometry [2-4]. These inherent optical properties form the link between the constituents of the water, including phytoplankton, and the reflectance. Phytoplankton IOPs show diel variations in nature [5-13]. The ocean diel variations of the IOPs are in part influenced by cycles of biomass due to daily photosynthesis leading to larger cells [14-16], cell division [17, 18] and nightly grazing and respiration (e.g.,[6]). They have been used to compute phytoplankton or community production (e.g.,[5, 14]) non-intrusively. This study focuses on the diel changes of both phytoplankton biomass and their physiology that influence IOPs.

The main IOPs of ocean water are the absorption coefficient (a , m^{-1}) and the volume scattering function (VSF or β , $\text{m}^{-1} \text{sr}^{-1}$) [19]. They are additive, meaning that, for example, the total absorption coefficient (a , m^{-1}) is the sum of the absorption coefficient of water, dissolved matter and particles (a_p , m^{-1}). The volume scattering function represents the angular scattering amplitude and is often integrated from 0° to 90° to obtain the forward scattering coefficient, from 90° to 180° to obtain the backscattering coefficient (b_b , m^{-1}) and from 0° to 180° to obtain the total scattering coefficient (b , m^{-1}). The ratio b_b/b is referred to as the backscattering ratio. The β

measured near 120° can also be used as a proxy for b_b [20-23]. The sum of a and b is the attenuation coefficient (c , m^{-1}). IOPs are independent from lighting conditions and can be measured in the laboratory or in situ. They can be used to obtain biological information about the constituents of water such as pigmentation (e.g., [24]), cell size (e.g., [21]) and carbon content (e.g., [8, 10, 25-27]).

1.1. Particle Models for IOPs

Particle models for IOPs are used to simulate the optical effect of water constituents. The simplest model assumes that particles are homogeneous spheres. It has been frequently used to simulate phytoplankton optical properties based on the Lorenz-Mie scattering theory (e.g., [28-33]). It has, however, been found to underestimate the backscattering coefficient [34-39].

The underestimation of the backscattering coefficient by particles represented by spheres could, at least in part, be responsible for what has been referred to as the “backscattering enigma”, the observation that the measurements of backscattering are significantly higher than predictions from the Lorenz-Mie theory [40, 41]. This observation has led to the speculation that small detrital particles, which are known to be abundant in the ocean should be responsible for most of the measured backscattering [30, 31, 42]. Particles in the size range of phytoplankton could, however, be a more significant source of backscattering than originally thought [34, 38, 39, 41, 43-47]. Relationships between the particulate backscattering coefficient (b_{bp} , m^{-1}) and chlorophyll concentration have also been observed in clear ocean waters (e.g., [48]), which could indicate a direct influence of phytoplankton on b_{bp} or a strong covariation of small particles with phytoplankton abundance.

Beyond homogeneous spheres, more complex particle models have also been used to represent phytoplankton. They vary in their representation of particle shapes and internal structure.

1.1.1. *Particle shape and more complex models*

Phytoplankton shapes are diverse [49, 50] and directly influence their optical properties [39, 43]. To calculate scattering from non-spherical models, computational techniques such as the T-matrix method [51] are used. These models have shown that backscattering is sensitive to shape [37, 52]. The discrete dipole approximation has also been used to model disk-like shapes to represent coccolithophores [53] and coccoliths [54, 55]. Bi and Yang [56] used the invariant imbedding T-matrix method to simulate the optical properties of coccolithophores and coccoliths with various degrees of calcification. The Schiff approximation has been used to represent phytoplankton of complex shapes [57]. An hexahedral particles model [58] has also shown promise for aerosol particles and has been applied to aquatic particles [59, 60] and the inversion of volume scattering functions of oceanic and coastal particles [61, 62]. For particle aggregates, the Generalized Multiparticle Mie-solution (GMM) model calculates scattering for aggregates based on the Lorenz-Mie theory [63].

The models with complex shapes mentioned above have shown reasonably good agreement with measurements of IOPs, including backscattering. However, they generally require lengthy calculations. Quirantes and Bernard [64] showed that a relatively simple layered spherical model representing the internal structure of phytoplankton produced results that were very similar to those from a model of randomly oriented coated spheroids for both b and b_b .

1.1.2. *Representing cell structure in models*

Adding a coating to the homogenous sphere models to represent cell membranes, frustules in the case of diatoms, or coccoliths for coccolithophores increases the backscattering ratio [34, 37, 44, 65, 66]. Other two layer models also treat chloroplasts as an outer layer [45, 64, 67] or as the core [35] or the core as a gas vacuole [68]. Three-layer models have also been studied, representing cytoplasm, chloroplasts and cell wall [34, 35, 67] or nucleus, cytoplasm and cell wall [69].

Multilayered models show that backscattering tends to increase significantly when adding cellular structure [35] while absorption and attenuation remain similar to homogeneous models. As mentioned above, the latter two are generally well modeled by homogeneous spherical models but backscattering is underestimated [35, 37, 70, 71].

1.1.3. *Refractive indices in models*

The dimensionless complex refractive index (m) of phytoplankton is represented as,

$$m(\lambda) = n(\lambda) + i \cdot n'(\lambda), \quad (1)$$

where λ (nm) is the wavelength, n is the real part of the refractive index, representing the phase velocity of the wave and n' is the imaginary part, representing absorption. Herein, we always provide values for the refractive indices relative to water ($n = 1.334$).

Refractive indices of phytoplankton and other oceanic particles vary depending on internal contents and composition [72]. The real part of the refractive index is generally linked to the

internal carbon concentration of planktonic organisms[73-75] and the imaginary part to pigmentation. The real part of the refractive index of phytoplankton cells can be measured in the laboratory by immersion of particles in liquids of different refractive indices until the edges of the particles disappear [76]. The known refractive index of the liquid will be associated to the particle. However, the method does not work well for inhomogeneous particles[72, 76] and is laborious.

The real part of the refractive index can also be derived through an iterative search method based on the Lorenz-Mie scattering theory or its anomalous diffraction approximation (e.g., [29, 32, 70, 71, 73-75, 77, 78]). Because these methods use spherical models to determine refractive index of particles, they are not ideal for a study (such as ours) whose objective is to assess the applicability of particle models to simulate scattering by phytoplankton. They are, however, more accessible than the direct measurements and provide an acceptable approximation most of the time.

1.1.4. Cell size distributions in models

Distributions of biological populations typically follow a log-normal distribution [79]. In the ocean, numerous populations of phytoplankton and other particles coexist, each with their own log-normal distribution of various sizes. The sum of the concentration all particles roughly follows a power-law function (e.g., [80]), and Junge distributions of particle size distribution with exponent between 2.5 and 5 are often used to model bulk particle size distributions in the ocean [81]. Sometimes the Junge distribution is broken down with different power law exponents for particles of diameters smaller and bigger than 6 μm [82, 83]. Such simplified distributions

are often used in modelling IOPs instead of measurements of particle size distributions. This, however, is inevitably a source of differences between the models and measurements because most natural distributions always depart from these idealized representations.

1.2. Using diel variations in cultures to study optical models

Cultures of phytoplankton allow the study of phytoplankton in controlled conditions, minimizing the presence of other mineral or detrital particles (especially in exponential phase and when proper care is taken). Consequently, they can help to identify the factors influencing the IOPs which follow diel variations in laboratory experiments [74, 75, 84, 85] as well as in nature [5-15].

In a previous study using the same cultures as presented herein, Poulin et al. [86] observed diel variations of b_{bp} suggesting that phytoplankton could at least partly drive the diel (or diurnal, i.e. during daylight) variations of b_{bp} that are observed in nature [16]. Those b_{bp} variations can also be used to study the factors that influence the applicability of different particle models to phytoplankton IOPs.

2. Objective

We aim to evaluate the applicability of various particle models in reproducing the diel changes of the optical properties of phytoplankton especially the backscattering coefficient. The particle models to be tested include homogeneous spheres, coated spheres and homogeneous asymmetric

hexahedra. The homogeneous sphere and asymmetric hexahedra represent almost diametric extremes in terms of particle shapes: symmetry vs. non-symmetry and smooth curve vs sharp edges. The use of coated sphere will test the homogeneity vs heterogeneity. The refractive indices and particle size distributions that are needed to calculate the bulk optical properties of phytoplankton species are derived from the ancillary measurements.

3. Materials and Methods

3.1.Experiments

The experiments were carried out to observe the diel variations of the optical properties of four species of phytoplankton. The details of the experiment were described in Poulin et al. [86] and here we provide a brief summary. The cultures were semi-continuous and maintained in exponential phase by diluting once a day with sterile culture medium for at least 10 generations to reach steady-state. Growth irradiance was provided by fluorescent tubes and computer-controlled to vary in intensity following a sinusoidal curve with a maximum of $400 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ outside the vessels and a 14 hour day/10 hour night cycle. Multiple samplings were carried out during a day starting one hour before sunrise and ending one hour after sunset.

We measured chlorophyll a concentration (Chl) by fluorometry using the non-acidification method [87, 88]. Cell counts and diameters were measured using a Multisizer 4 Coulter Counter (Beckman Coulter, USA) equipped with a $100 \mu\text{m}$ aperture tube and calibrated with $5 \mu\text{m}$ polystyrene beads (Fig. 24a). Cultures were diluted approximately 100 times (depending on the species) with a twice-filtered 35% NaCl Milli-Q solution before counting.

Samples for carbon were filtered on pre-cremated filters and decarbonated and dried before their analysis in a Fisons - EA-1108 CHNS-O Element Analyzer (Thermo Scientific, USA).

For optical measurements, a setup made up of a 7 L black bucket, an ac-s (Wet Labs, USA) connected by silicone tubing and a peristaltic pump was used while the ECO BB9 backscattering meter (Wet Labs, USA, wavelengths: 407, 439, 485, 507, 527, 594, 651, 715, 878 nm) was placed over the bucket, measuring heads in the water, facing down. We made sure that the sides of the bucket did not influence the ECO BB9 by checking stability of measurements while moving the instrument around (with filtered water and in the presence of algae). A recirculation loop with a 0.2 μm capsule filter was used for filtration between the bi-hourly sampling time-points.

We poured a volume of the culture sample varying between 50 mL and 200 mL (depending on the scattering of the cultures during previous tests) in the 7 L bucket and lightly but thoroughly mixed the contents and removed any bubbles on the heads of the ECO BB9 by wiping carefully with a squeegee before measuring simultaneously with the ac-s and the ECO BB9. We obtained the total volume scattering function at $124^\circ(\beta(124), \text{m}^{-1})$ from the ECO BB9 counts by interpolating between the pre experiment and post-experiment factory calibration values. We subtracted Zhang et al. [89] volume scattering function of pure water to obtain the volume scattering function of particles ($\beta_p(124), \text{m}^{-1}$). The particulate backscattering coefficient (b_{bp}, m^{-1}) was calculated as

$$b_{bp} = 2\pi\chi\beta_p(124), \quad (2)$$

where we used 1.076 [90] for the proportionality constant χ .

While the bucket content was filtered between each bi-hourly sampling to return to blank values, this was not done between each sample (two cultures in three replicates were

measured at each time point). Therefore, for each sample, the particulate absorption coefficient (a_p, m^{-1}), the attenuation coefficient (c_p, m^{-1}) and b_{bp} of the preceding sample was subtracted to obtain the particulate coefficients of the measured sample.

3.2. Theoretical optical properties

We simulated the diel variations of the internal carbon concentration optically by changing the real part of the refractive index of the particle cores. For each species, we used the maximum and minimum refractive indices reported in Aas [72], averaged them and linearly regressed them against the maximum, minimum and average intracellular carbon concentration (Mass/Volume, $\mu\text{g}/\mu\text{m}^3$) measured in our experiments. Using this relationship, we computed the refractive index for each time point from the measured intracellular carbon concentration. We used the mean of the 3 cultures at every time point for the simulations (Fig. 24 b).

Following Morel and Bricaud [28] and Stramski and Reynolds [74], the imaginary part of the refractive index (n'') was calculated using Eqs. (3) to (6) for every culture at each time point for the wavelengths measured with the ECO BB9 (Fig. 24c). We used the experimental data to obtain the intracellular chlorophyll concentration ($Chl_i, \text{mg m}^{-3}$), the chlorophyll-specific absorption coefficient ($a_p^{chl}, \text{m}^2 \text{mg}^{-1}$) and the cell diameter (D, m) using Eq. (3):

$$n'' = \rho' (4x)^{-1} \quad (3)$$

$$\rho' = D a_{cm}(\lambda), \quad (4)$$

$$x = \pi D n_w \lambda^{-1} \quad (5)$$

$$a_{cm}(\lambda) = a_p^{chl} Chl_i \quad (6)$$

where ρ' is the optical thickness parameter, x is the size parameter, n_w is the refractive index of water (1.334), and a_{cm} is the absorption coefficient of the cellular material. The refractive index (m) was thus calculated with Eq. (1). The n of the shell (n_{shell}) for the diatoms was set to 1.1 (representing opal; [72]). Even though *Dunaliellacells* do not possess a shell per se, to evaluate the performance of the coated sphere model across all the species, we assigned a refractive index of 1.08 corresponding to the shell of *Chlorella*, another genus of green algae, for the n_{shell} of *D. tertiolecta*.

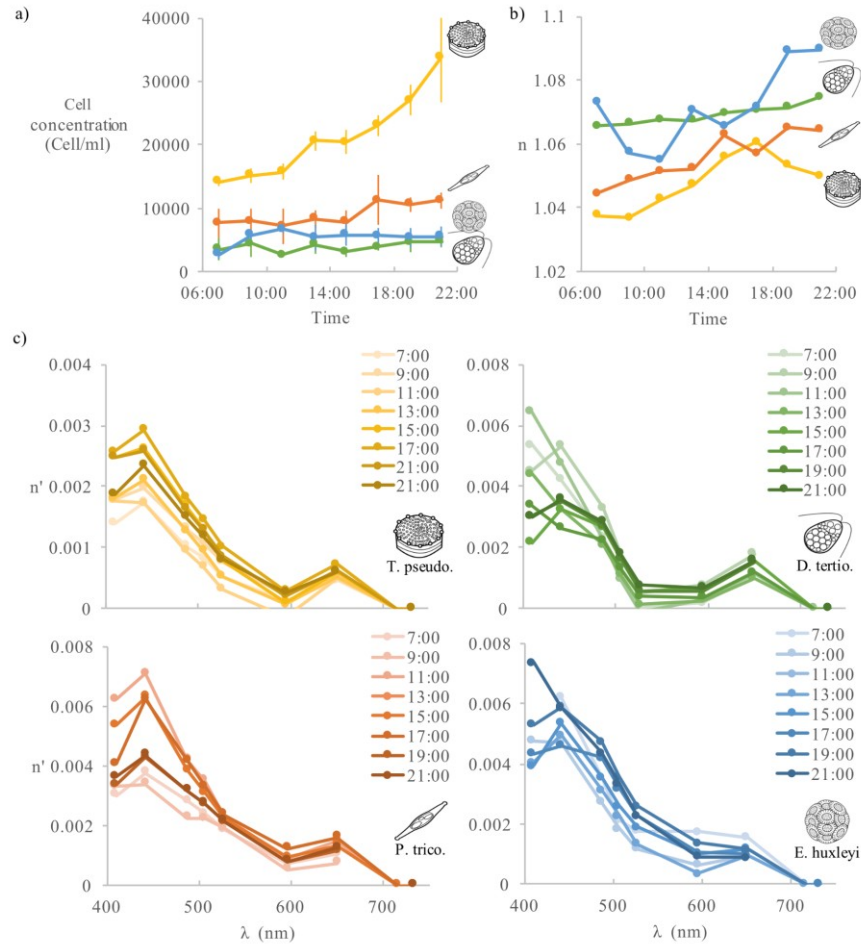


Fig.24: Diel variations of (a) the cell concentration in the IOP measurement container. (b) the real and (c) the imaginary part of the refractive indices estimated from the measurements of intracellular carbon and chlorophyll concentrations.

We did not include an imaginary part to the refractive index of the shells, since pigments are found within the cells. The thickness of the shells (r_{shell} , μm) was fixed at $0.1 \mu\text{m}$ for the diatoms [91] and $0.1 \mu\text{m}$ for *E. huxleyi*, which is on the lower end of observed values in cultures [92]. For the hexahedral model, we averaged the real part of the refractive index of the core with the n_{shell} and used it for the whole cell.

3.2.1. Simulating the IOPs

The use of the experimental and theoretical data to simulate the IOPs is described in Fig. 25. For the spherical particle model simulations, we used a Matlab code developed by Zhang [93], which allows the numerical computation of scattering phase function of spherical particles with a coating based on the Lorenz-Mie scattering theory. The hexahedral particle model simulations were carried out with a function developed by Zhang [23] based on precomputed results for asymmetrical hexahedral particles from the model developed by Bi et al. [94].

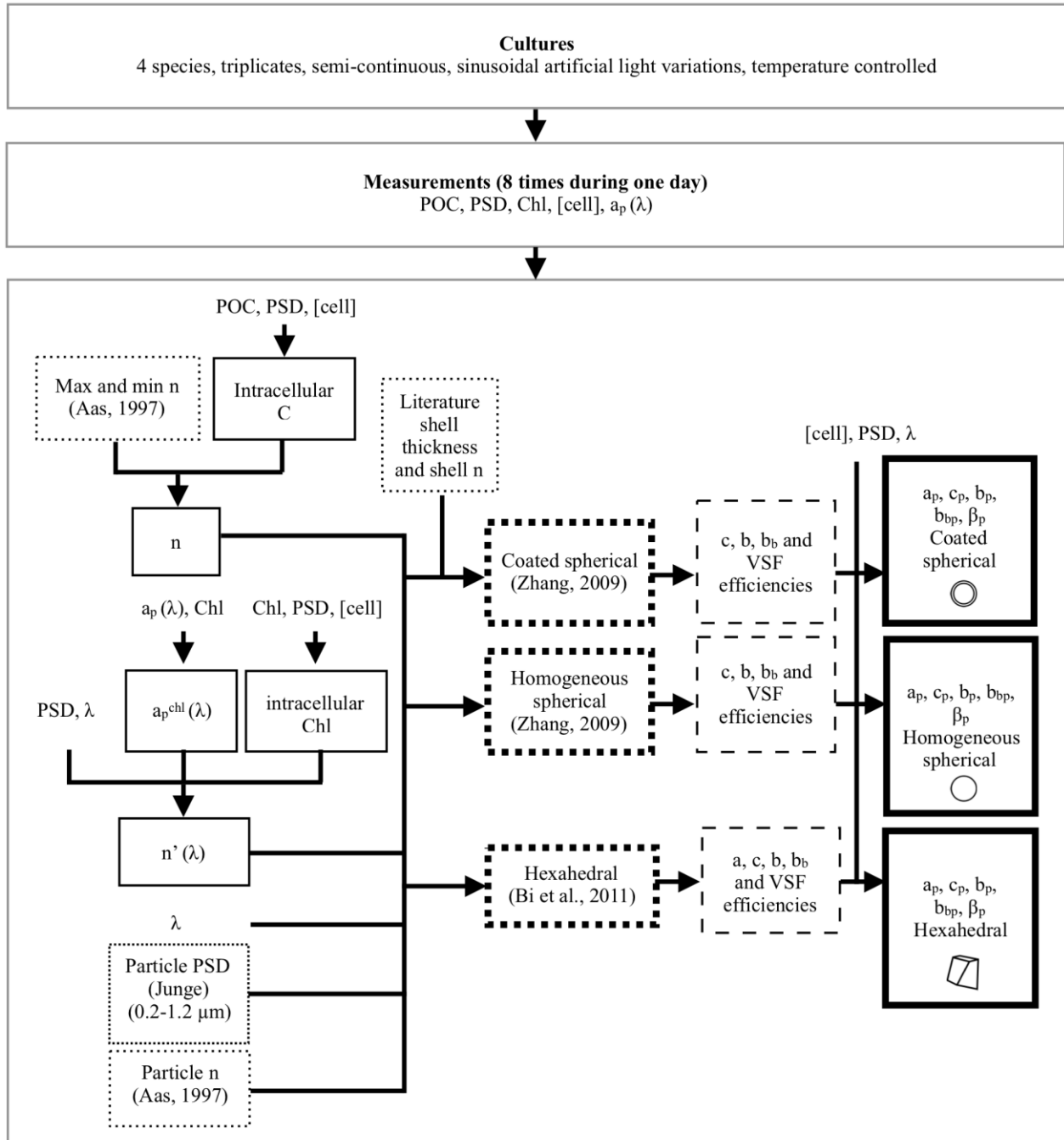


Fig.25: Flow chart of the models. Model inputs calculated from measurements are in boxes with thin solid lines. Model inputs from literature are in dotted boxes. Models are in thick short-dashed boxes, model direct outputs are in boxes with thin dashed lines and final model IOPs outputs are boxes with thick solid line.

We used the entire cell size distributions obtained from the Multisizer 4 Coulter Counter (Beckman Coulter, USA) (see Poulin et al. [86]) in volume equivalent spherical diameters to calculate the IOPs from the optical efficiencies obtained by the models. It is worth noting that the species that were not spherical (*T. pseudonana* and *P. tricornutum*) had slight shoulders in their cell size distributions due to changes in orientation. When we added a coating to the model, we kept the measured total radius of the cells and subtracted the shell's thickness to obtain core radius in the calculations.

For comparison between simulated and measured IOPs with the ac-s, we adjusted the modelled b_p values to account for the acceptance angle of the ac-s by removing the integrated β_p values between 0° to 0.9° from simulated scattering coefficients [61].

We did not include the spectral dependence of the real part of the refractive index in the models. This is not likely to have a significant impact on the results [32].

3.2.2. Sensitivity analysis

To examine the impact of changes of different model parameters over a realistic or expected range, we carried out a sensitivity analysis for each species at 651 nm to reduce the impact of absorption and using the cell size distributions measured at the 15:00 sampling point. We varied the values for the following input parameters: shell refractive index; real part of the refractive index of the core; imaginary part of the refractive index of the core; power exponent of Junge distributions; shell thickness (for the coated spherical model only); cell diameter; and cell numbers. For each parameter, we found realistic maximum, minimum and average values from

the literature and made the calculations varying only one parameter at a time to examine its influence on $b_{bp}/b_p, \beta_p(124)$, c_p and a_p .

In addition, since the particles with radius smaller than $1.12 \mu\text{m}$ were not measured by the Coulter Counter, we conducted a sensitivity analysis where we added particles following Junge distributions with their amplitude set by the smallest bin of the Coulter Counter and varied the power law exponents. The particle size distributions were modelled between $0.2 \mu\text{m}$ to $1.12 \mu\text{m}$ and their refractive index was assumed to be invariant during the experiment and did not include an imaginary part. The n for these small particles was set at 1.2 (calcite) for *E. huxleyi* [53, 72] and 1.058 (representing particles similar in composition to marine bacteria) for the other species [72].

3.2.3. *Reproducing diel variations with models*

We tested different combinations of the input parameters within their realistic ranges to obtain the closest fit to the measurements for $b_{bp}/b_p, \beta_p(124)$, c_p and a_p for diel variations.

4. Results

4.1. *Sensitivity analyses*

4.1.1. *Overall comparison with measurements*

For the coated spherical model (Fig. 26), the ranges of IOP values obtained through the sensitivity analysis overlapped within 1 standard deviation the measured values (shaded region overlaid on Fig. 26) for all species and IOPs. This shows that the coated spherical model can be used within a reasonable range of input parameters to represent the measured values. The

sensitivity analysis results for the homogeneous spherical model only overlapped with the measurements for c_p and a_p , which is consistent with previous observations [35, 37, 70, 71]. The sensitivity analysis results for the hexahedral model (Fig. 27) overlapped with the measurements for c_p and a_p for all species. They also fit the b_{bp}/b_p and $\beta_p(124)$ for *P. tricornutum* and they fit the $\beta_p(124)$ for *E. huxleyi* in rather extreme conditions ($n \sim 1.198$). The model results for the hexahedral particles were too low for b_{bp}/b_p and $\beta_p(124)$ of *D. tertiolecta* and *T. pseudonana*. In summary, the hexahedral model generally provided estimates of $\beta_p(124)$ that were too low while the coated spherical model could match all the observations within the realistic ranges of the input values.

4.1.2. Cell radius

A $\pm 25\%$ variation in cell size was tested because of the difficulty to adequately measure equivalent cell diameter of non-spherical particles with a Coulter Counter [95]. For all models, a 25% difference in cell radius led to significant range of changes (~ -66 to 140% change) on the modelled outputs of a_p , c_p and β_p , and was generally the largest influence on the IOPs among the variables. Its impact was less important on the backscattering ratio (~ -33 to 38% change).

4.1.3. Shell n

For the coated spherical model, the shell's refractive index had an important effect on $\beta_p(124)$ (Fig. 26, from ~ -80 to 80% change). Removal of the shell returns values for $\beta_p(124)$ that are $\sim 10\%$ of the average values for *E. huxleyi*, 25% for *T. pseudonana*, 55% for *P. tricornutum* and 75% for *D. tertiolecta* (compare point with the gray vertical line on Fig. 26). The b_{bp}/b_p is also strongly influenced by the n_{shell} (~ -80 to 160% change) while c_p is not (~ -55

to 25% change for *E. huxleyi*, ~ -4 to 4% change for other species). This is consistent with previous observations by Meyer [65], Quinby-Hunt et al. [66], Kitchen and Zaneveld [34] and Bernard et al. [45]. Witkowski et al. [96, 97] also modelled that cell membrane had an influence on scattering.

4.1.4. Shell thickness

Frustule thickness can vary between 0.063 μm and 0.15 μm for *T. pseudonana* [91], calcite layers in coccolithophores vary in average between 0.28 and 0.35 μm , but can be as low as 0.1 μm in cultures[92]. Similarly, when the outer layer is used to represent chloroplasts in some models (e.g., [45, 64, 67]), its thickness also varies. For example, Janssen et al.[98] found that chloroplasts relative volume to the cell could vary between 4 and 57% in diatoms depending on the growth conditions [45].

We found that the r_{shell} has an important effect on the backscattering ratio and $\beta_p(124)$ (from ~ -47 to 55% change) and almost no effect on c_p , (~ -23 to 30% for *E. huxleyi* and -4 to 4% for others) which is consistent with the models of Meyer [65], Quinby-Hunt et al. [66] and Kitchen and Zaneveld [34].

4.1.5. Small particles

We tested the effect of small particles by adding a Junge distribution with a power exponent up to 4 (see methods). For the coated spherical models, the effect of those small particles on all the modeled IOPs was relatively small (~ -4 to 36%) compared to the effect of shell refractive index and radius.

4.1.6. Core n and n'

Relative to other input parameters, the core n affects b_{bp}/b_p more than the other IOPs for both the spherical and hexahedral models. For the hexahedral model, the core n has an important effect (~ -75 to 387% for *E. huxleyi*, ~ -50 to 62% for other species). Kitchen and Zaneveld [34] found a larger effect of variations of the refractive index between 1.02 and 1.09 on attenuation and scattering for homogenous spheres models; the range they examined is, however, much larger than what we used here.

4.1.7. Cell number

We tested the effect of a 20% variation in cell numbers, representing the uncertainty in our Coulter Counter counts for the same culture at the same time. This has theoretically no effect on the backscattering ratio, its 20% effect on the other IOPs was less important than the shell's characteristics on $\beta_p(124)$ (~ -20 to 20% change) and less important than the shell radius for c_p and a_p (~ -20 to 20% change).

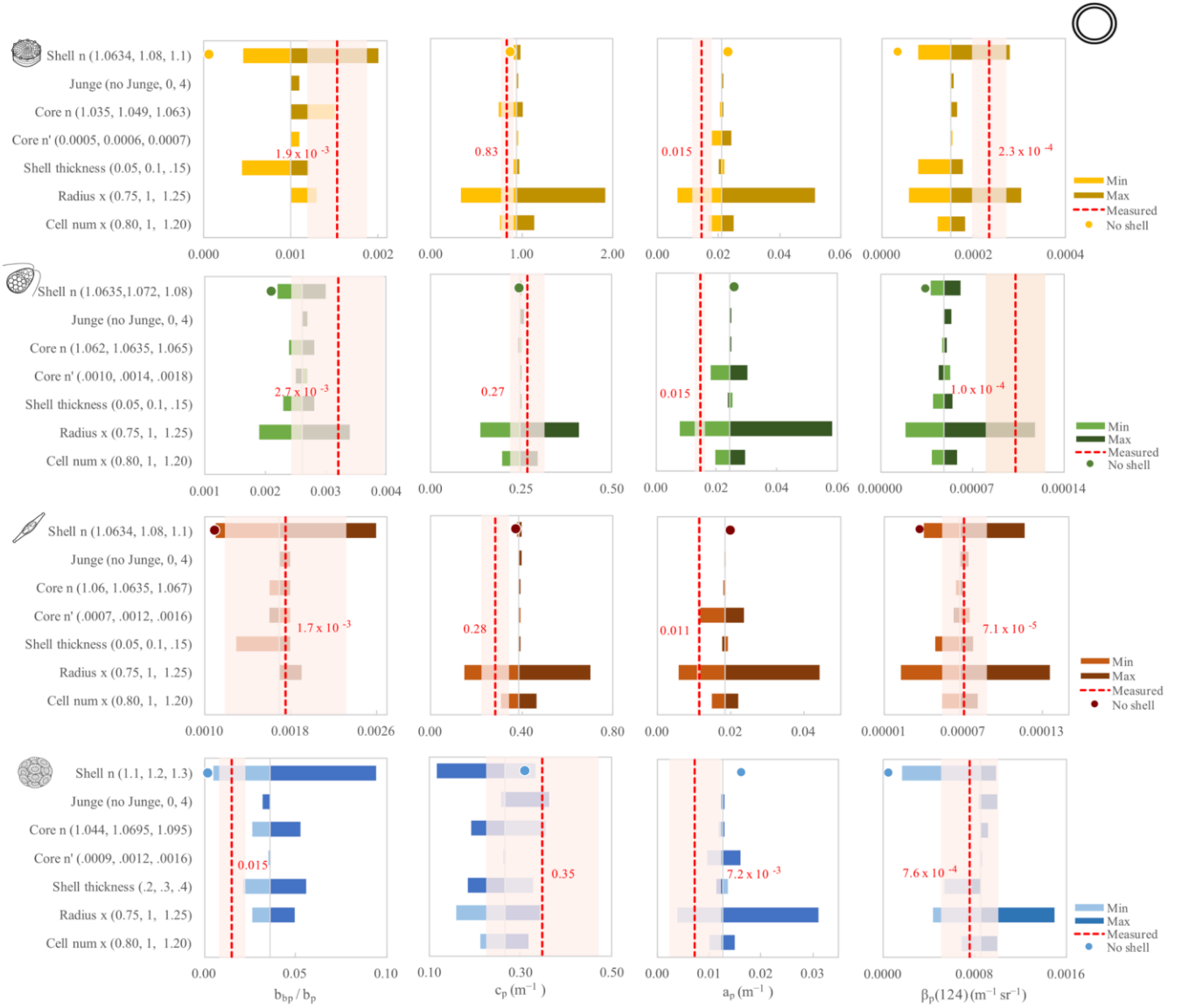


Fig. 26: Sensitivity analysis of our coated spherical particle model for b_{bp}/b_p , c_p , a_p and $\beta_p(124)$ at 651 nm at the 15:00 time point. The homogeneous sphere model with the “average” core n is represented by the filled circle on the ‘Shell n’ row on each panel. The dashed vertical line indicates the average measurement value while the pink rectangle represents one standard deviation.

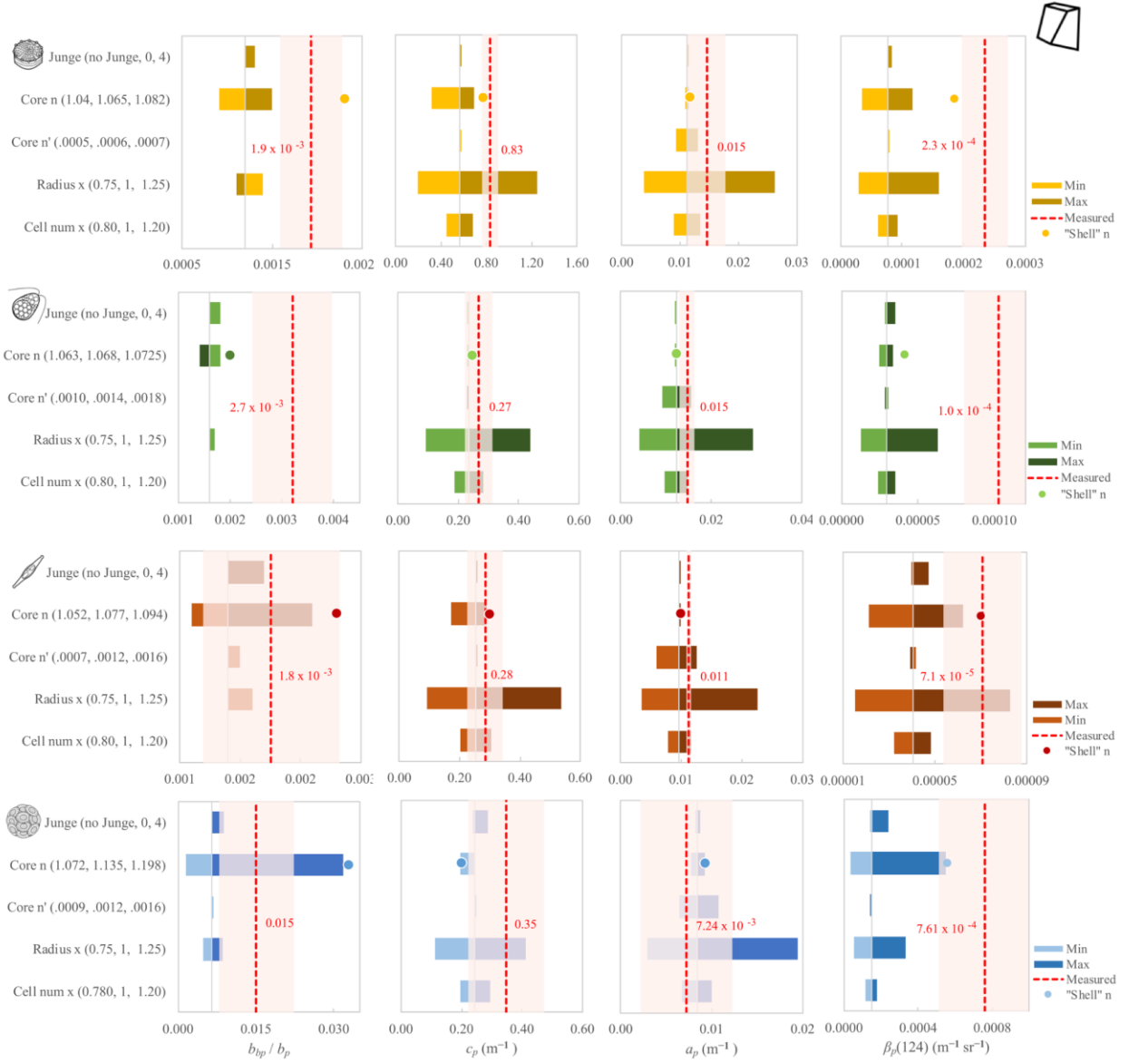


Fig. 27: Sensitivity analysis for the hexahedral particle model for b_{bp}/b_p , c_p and a_p and $\beta_p(124)$ at 15:00 and 651 nm. The filled circle on the 'Core n' row is calculated with the core n at the value of the shell's n (1.08 for *D. tertiolecta*, 1.1 for *T. pseudonana* and *P. tricornutum* and 1.2 for *E. huxleyi*). The dashed vertical line indicates the average measurement value while the pink rectangle represents one standard deviation.

4.1.8. Shape

The differences between different modelled shapes for β_p are more pronounced between 60 and 120° where the spherical model is higher than the hexahedral model (Fig. 28-a). We found that the effect of adding a shell to the homogeneous spherical model had a more important effect than the shape of the particles for b_{bp}/b_p ; the values of the homogenous models were within 45% of each other while adding a shell increased b_{bp}/b_p by 300% to values within 35% of the measurement (Fig. 28). For b_p , the two spherical models were more similar to each other and closer to the measurements (within 22%) while the hexahedral model was up to 70% lower. This is consistent with Volten et al. [99] and Quinby-Hunt et al. [66] finding that internal structures played a more important role in scattering than shape. The shape has an influence on the b_p 's spectrum, the spherical models seem to represent both the amplitude and shape of the spectrum better for the tested case. Our results are similar to those of Quirantes and Bernard [37] and Clavano et al. [39] that showed that absorption and attenuation were not strongly influenced by the particle shape in scattering models of off-centered coated spherical and randomly oriented spheroid models.

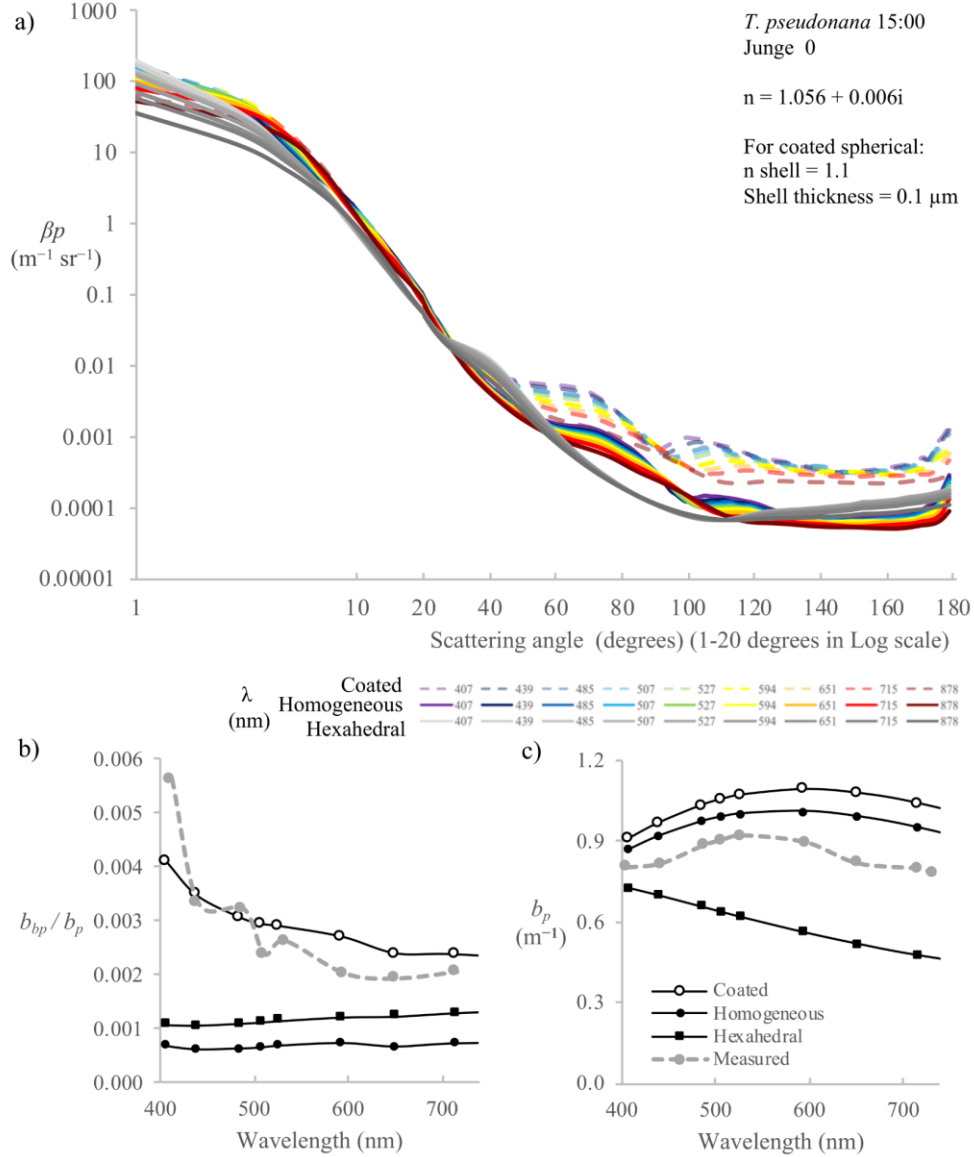


Fig. 28: a) Comparison of the volume scattering functions obtained by the hexahedral (gray), homogeneous spherical (solid colored lines) and coated spherical (dashed colored lines) models for *T. pseudonana* at 15:00 with $n_{\text{shell}} = 1.1$, $r_{\text{shell}} = 0.1 \mu\text{m}$ and a population of particles smaller than a radius of $1.12 \mu\text{m}$ represented by a Junge distribution of slope 0. Angles from 1 to 20° are displayed on a logarithmic scale and those from 20 to 180° are on a linear scale. The same cell size distribution was used for all models. b) Spectra of b_{bp}/b_p and c) spectra of b_p for the three models and measurements for the same samples and inputs.

The modeled b_{bp}/b_p spectrum (Fig. 28-b) of the coated spherical model showed decreasing values with wavelengths that were close to the measurements, even though the blue head of the ECO BB9 gave noisier results. The b_p spectra (Fig. 28-c) seem to show that total scattering is more affected by shape than coating with the hexahedral model showing values that are ~40% lower than both spherical and coated spherical models. Our measured b_{bp} spectra (Fig. 29) are similar to Whitmire et al.'s [41] with a minimum around 630 nm and an increase near 700 nm; they were also made with the same instrument.

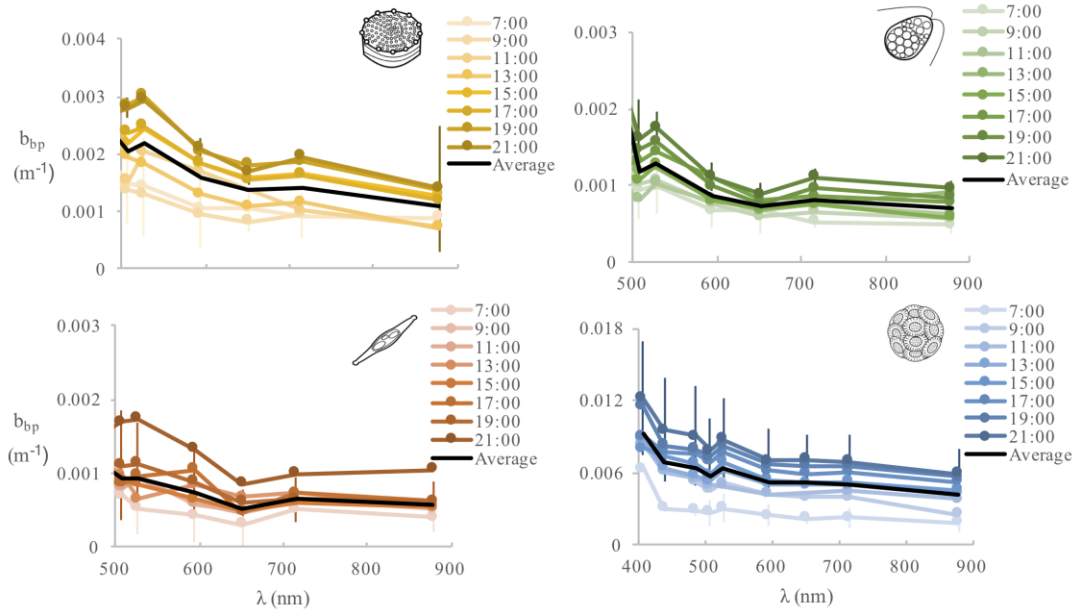


Fig. 29: Average b_{bp} spectra measured at the different times of the day and their daily average spectra for *T. pseudonana*, *D. tertiolecta*, *P. tricornutum* and *E. huxleyi*. Error bars show the standard deviations between the culture replicates.

4.2. Diel variations

For all species, a reasonable fit of the diel variations of the IOPs was obtained with a Junge slope of 0 and the coated spherical model, suggesting that particles of radii from 0.2 to 1.12 μm did not have an important contribution to the IOPs measured, as expected from the sensitivity analysis.

4.2.1. *T. pseudonana*

For *T. pseudonana* (Fig.30), the hexahedral and homogeneous spherical model had an acceptable fit for both a_p and c_p , but were too low for $\beta_p(124)$ and b_{bp}/b_p , as expected [35, 37, 70, 71]. The coated spherical model had the best fit to all the measurements. It exceeded the measurements mostly at the last time point of the day; since this species possesses a silica frustule and has a cylindrical shape of a low elongation ratio, the coated spherical model is also intuitively the most appropriate of the model tested.

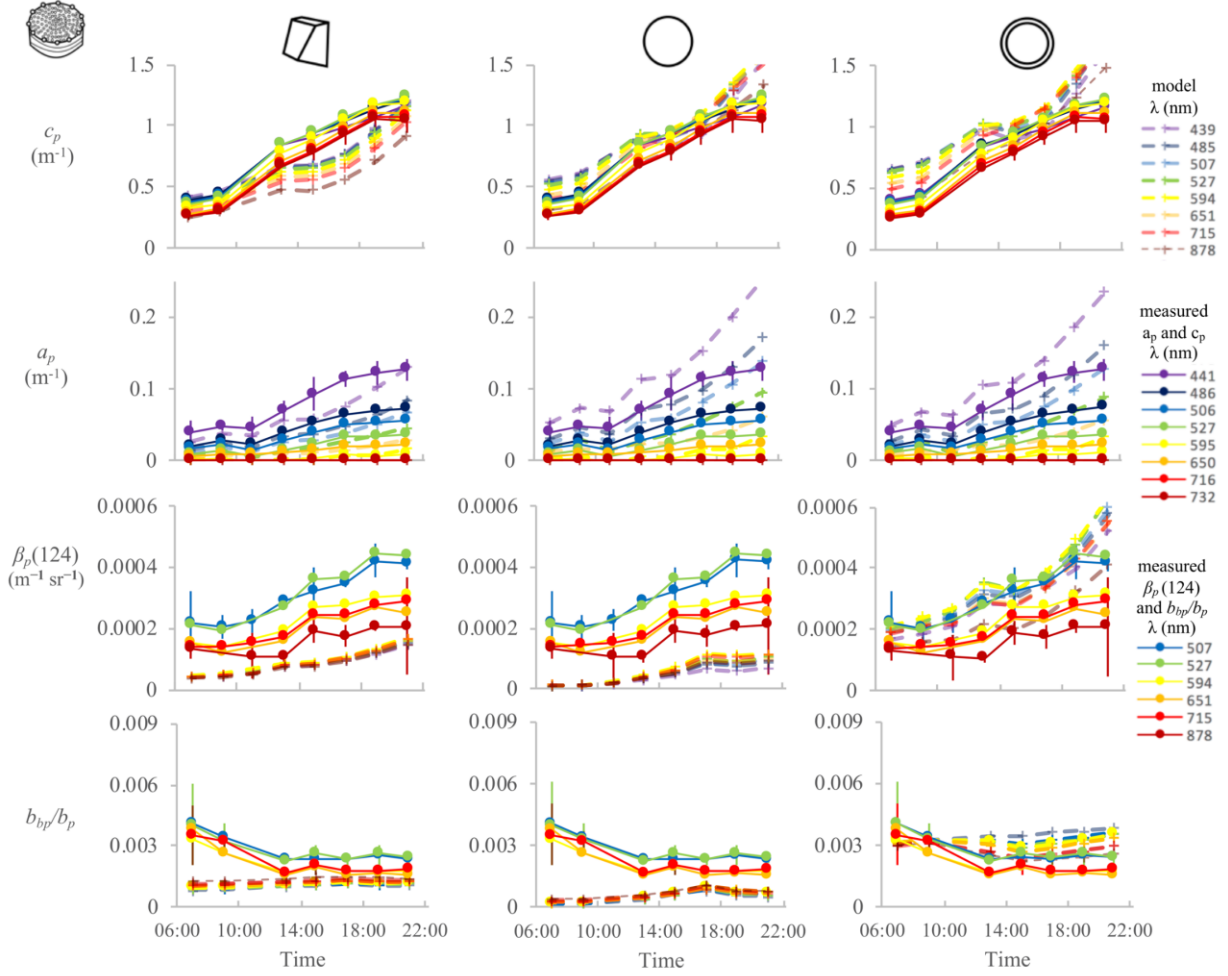


Fig.30: Diel variations of c_p , a_p , $\beta_p(124)$ and b_{bp}/b_p for the measurements (full lines) and hexahedral, homogeneous spherical and coated spherical models (dashed) for *T. pseudonana*. Inputs for the models shown are a Junge slope of 0 and an n of 1.058 for particles of a radius smaller than 1.12 μm , a r_{shell} of 0.1 μm , n_{shell} of 1.1 for the coated spherical model, a core n that varies according to carbon concentration (averaged with the shell's n for the hexahedral model). Errors bars represent the standard deviations of the measurements for the shortest and longest wavelengths shown.

4.2.2. *D. tertiolecta*

For *D. tertiolecta* (Fig.31), the hexahedral model gives a good fit for c_p and a_p only, and is too low for $\beta_p(124)$ and b_{bp}/b_p . The homogeneous spherical model gives higher values, but the fit for $\beta_p(124)$ and b_{bp}/b_p is still poor. The coated spherical model gives a closer fit than the others, but still gives values that are slightly too low for $\beta_p(124)$ and b_{bp}/b_p , especially for the shorter wavelengths and too high for c_p ; the $\beta_p(124)$ is also inverted. It is possible that this species' complex internal structure is harder to simulate using the coated sphere with a homogeneous "soft" interior.

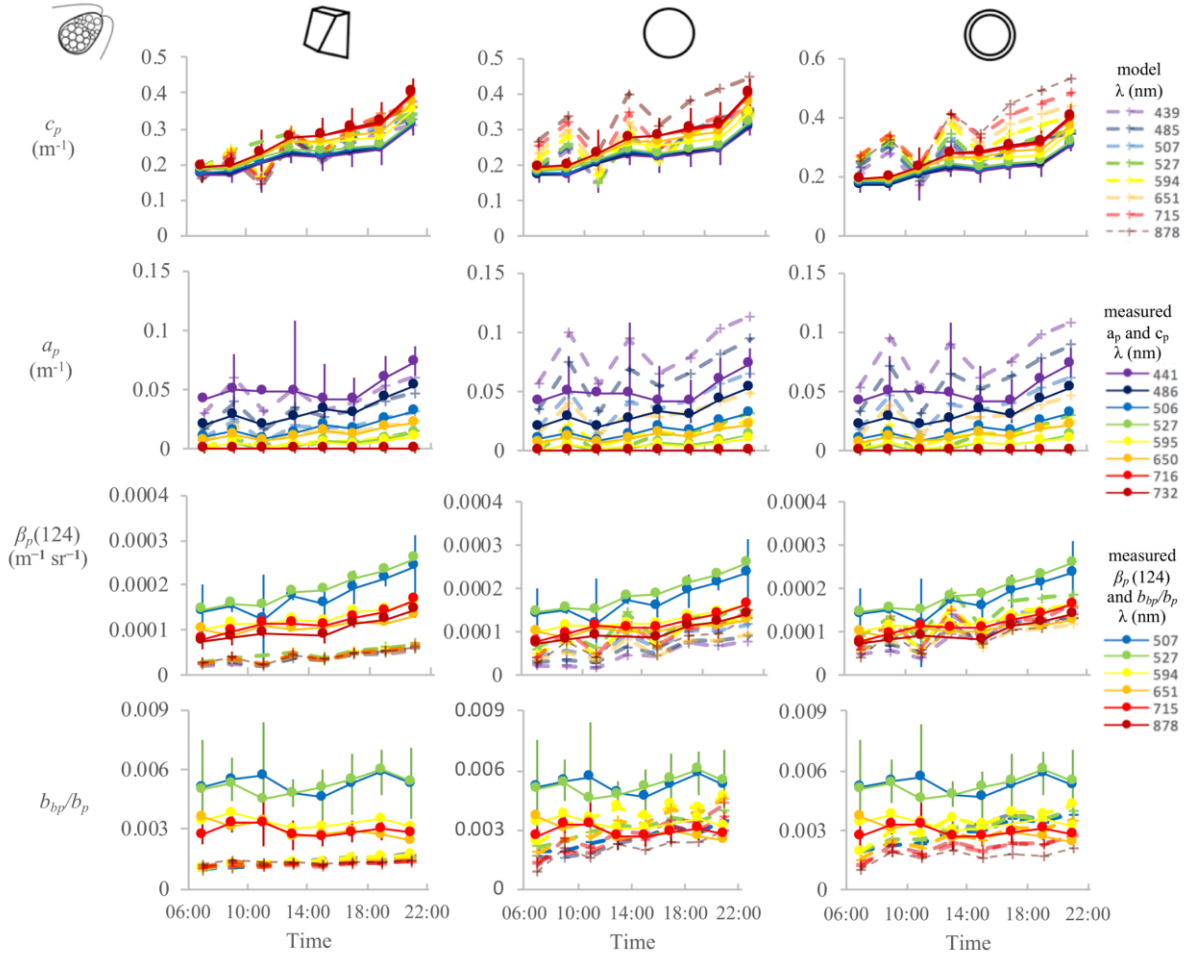


Fig.31: Diel variations of c_p , a_p , $\beta_p(124)$ and b_{bp}/b_p for the measurements (full lines) and hexahedral, homogeneous spherical and coated spherical models (dashed) for *D. tertiolecta*. Inputs for the models shown are a Junge slope of 0 and a n of 1.058 for particles of a radius smaller than 1.12 μm , r_{shell} of 0.1 μm , n_{shell} of 1.08 for the coated spherical model, a core n that varies according to carbon concentration (averaged with the shell's n for the hexahedral model). Errors bars represent the standard deviations of the measurements for the shortest and longest wavelengths shown.

4.2.3. *P. tricornutum*

Of the species examined here, the hexahedral model had the closest fit for *P. tricornutum* (Fig. 32). The modelled values of $\beta_p(124)$ and b_{bp}/b_p were nevertheless underestimated. The homogeneous spherical model gave a good fit for a_p , but slightly overestimated c_p and was lower than the hexahedral model for $\beta_p(124)$ and b_{bp}/b_p . However, the homogeneous model with the averaged shell and core n that is used for the hexahedral model (not shown) gives higher $\beta_p(124)$ and b_{bp}/b_p values than the hexahedral model. The coated spherical model gave a good fit for all the measurements, but it slightly overestimates c_p . Since this species has a silica frustule, it is logical that the coated model would represent it better. The shape is, however, closer to a hexahedral shape than a sphere, so models using a hexahedral model with coating or an elongated spheroid with shell (e.g., [37]) should be evaluated.

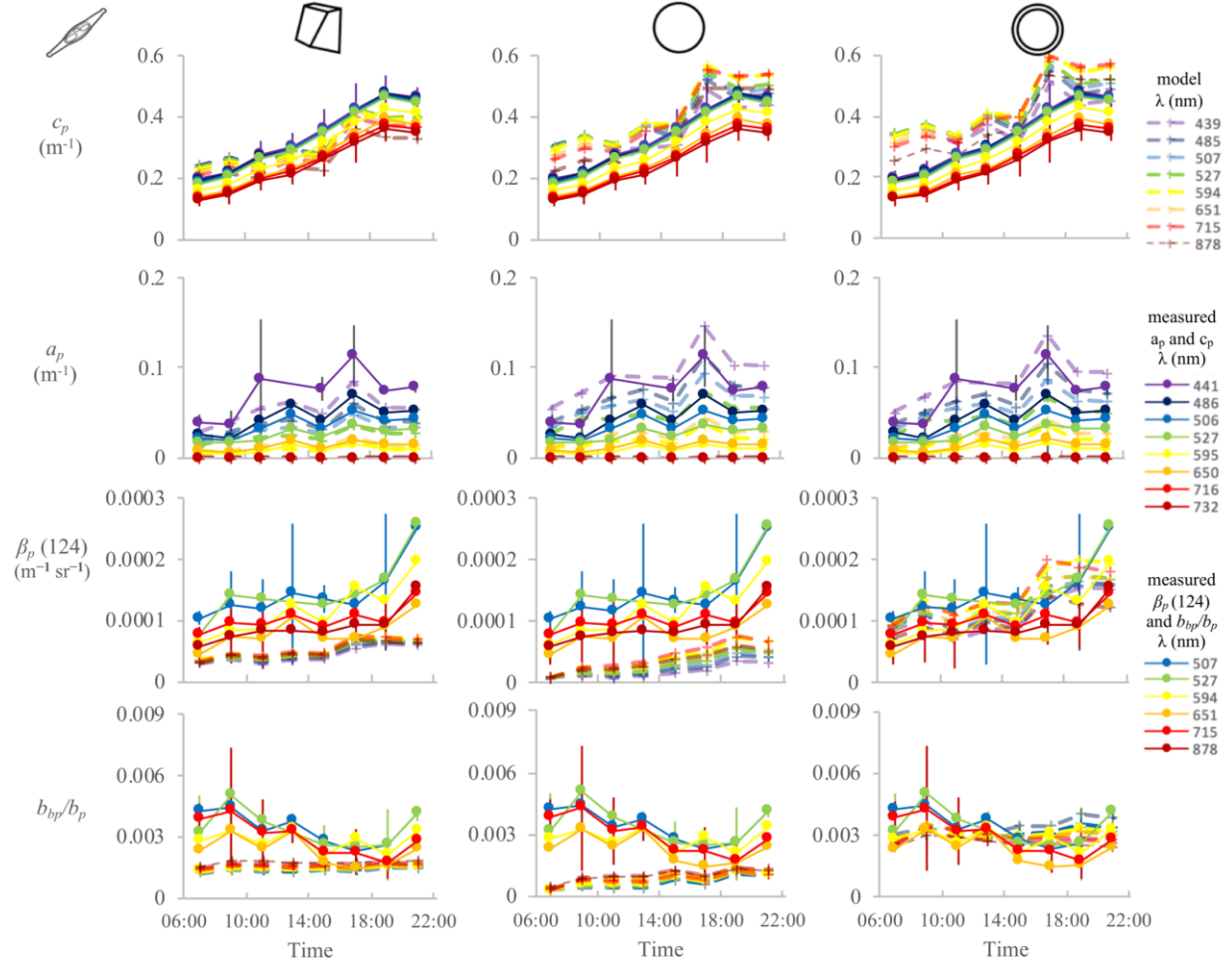


Fig. 32: Diel variations of c_p , a_p , $\beta_p(124)$ and b_{bp}/b_p for the measurements (full lines) and hexahedral, homogeneous spherical and coated spherical models (dashed) for *P. tricornutum*. Inputs for the models shown are a Junge slope of 0 and a n of 1.058 for particles of a radius smaller than 1.12 μm , r_{shell} of 0.1 μm , n_{shell} of 1.1 for the coated spherical model, a core n that varies according to carbon concentration (averaged with the shell's n for the hexahedral model). Errors bars represent the standard deviations of the measurements for the shortest and longest wavelengths shown.

4.2.4. *E. huxleyi*

For *E. huxleyi* (Fig. 33), the hexahedral model was too low for all the measurements, though the estimates for a_p and c_p are fairly close (within 50%). The homogeneous spherical model gave better results only for a_p , but the homogeneous spherical model with the averaged shell and core (not shown) gave better results than the hexahedral model for $\beta_p(124)$ and b_{bp}/b_p . The coated spherical model provided a particularly precise estimate for a_p . The last part of the day was lower than the averages of the measurements, but still inside the standard deviations for c_p and b_{bp}/b_p was also inside the standard deviations. The $\beta_p(124)$ was underestimated for the last part of the day. *E. huxleyi* is a spherical coccolithophore covered with calcite coccoliths. While a calcite coating is a reasonable approximation of that layer of coccoliths, it is possible that the more complex structures in it play a role in the differences we see between the model and the measurements. Still, the importance of the calcite shell in models has been demonstrated before [44, 100].

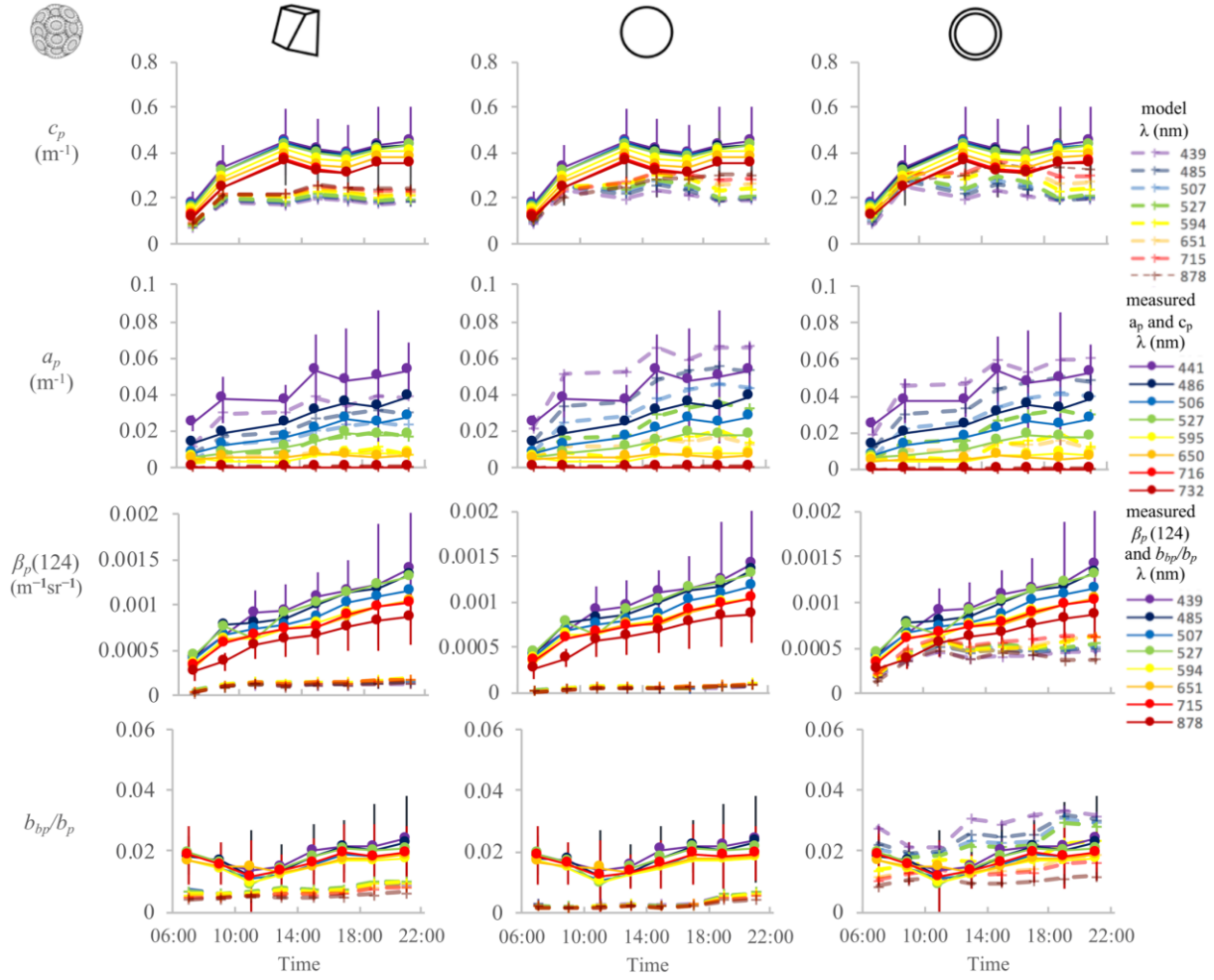


Fig. 33: Diel variations of c_p , a_p , $\beta_p(124)$ and b_{bp}/b_p for the measurements (full lines) and hexahedral, homogeneous spherical and coated spherical models (dashed) for *E. huxleyi*. Inputs for the models shown are a Junge slope of 0 and a n of 1.2 for particles of a radius smaller than 1.12 μm , r_{shell} of 0.1 μm , n_{shell} of 1.2 for the coated spherical model, a core n that varies according to carbon concentration (averaged with the shell's n for the hexahedral model). Errors bars represent the standard deviations of the measurements for the shortest and longest wavelengths shown.

Even if the core's refractive index was changed throughout the day to represent carbon accumulation in the cell, the shape of the models' diel variations for c_p , a_p , $\beta_p(124)$ was more strongly influenced by the changes in cell concentration (see Fig. 24a).

4.2.5. Cross-sections for c_p and $\beta_p(124)$

The IOPs presented above are equivalent to those measured in the field. Interpretation of their diel cycles in the field are generally interpreted in term of biomass. Laboratory measurements allow us to remove the effect of changes in the cellular concentration by examining the diel variations in cross-sections thereby looking only at in cell-specific changes. When computing cross-sections, the model outputs are only a function of: the cell diameter; the real part of the refractive index; and imaginary part of the refractive index. We can further expect that shape and internal structure would play a role in the measurements.

Attenuation cross-sections (Fig. 34; σ_c , $\text{m}^2 \text{ cell}^{-1}$) were well modeled by the hexahedral model for *P. tricornutum* and *D. tertiolecta*, which are the least spherical cells in this study. The spherical models overestimated σ_c for the second half of the day. *D. tertiolecta* and *P. tricornutum* were better modeled by the hexahedral model than the coated spherical model for σ_c , which is less affected by the shell [35, 37, 70, 71]. There are significant differences between the measurements and the models for σ_c , indicating that there are intracellular diel changes that are not well represented by our models. It is possible that there are diel changes in the thickness of the shells, as observed by Moutier et al. [101], or even its refractive index. The spectral shape (i.e. positive or negative slope with wavelength) tended to be well represented by the model for *T. pseudonana* and *D. tertiolecta*. The models consistently had the spectral slope inverted with respect to the measured spectra for *P. tricornutum* and *E. huxleyi*.

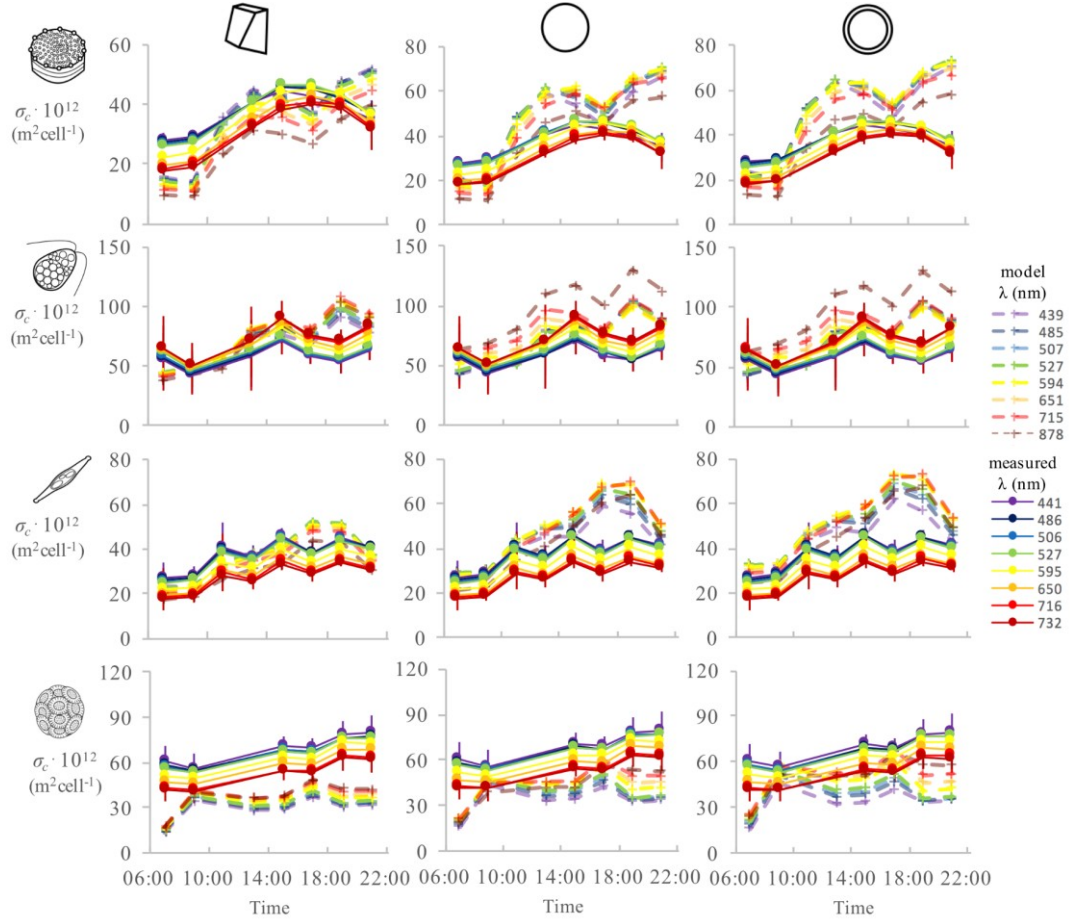


Fig. 34: Diel variations the attenuation cross-section (σ_c) for the measurements (full lines) and hexahedral, homogeneous spherical and coated spherical models (dashed). Errors bars represent the standard deviations of the measurements for the shortest and longest wavelengths shown.

The $\beta_p(124)$ cross-sections ($\sigma_{\beta_p(124)}, \text{m}^2 \text{cell}^{-1}$) were underestimated by the hexahedral and the homogeneous sphere model for all species (Fig. 35), the modeled spectral shapes were also much flatter than the measurements. The coated sphere model provided values that were in the right range, but the model values showed more diel variations than the measurements and spectral shapes were only reproduced for some species. *E. huxleyi*, was an exception with respect

to diel changes where the measurements of $\sigma_{\beta p(124)}$ show an overall increase of $\sim 50\%$ during the day that was not reproduced by the models. These results suggest that we overestimated the diel variations in core refractive index in the models by assuming that they would span the range of measured values within 1 day, since it is the only factor that varied with time other than cell numbers and size, which we measured. Alternatively, it could be that smaller particles play a larger role than modelled here and would reduce the overall diel changes observed.

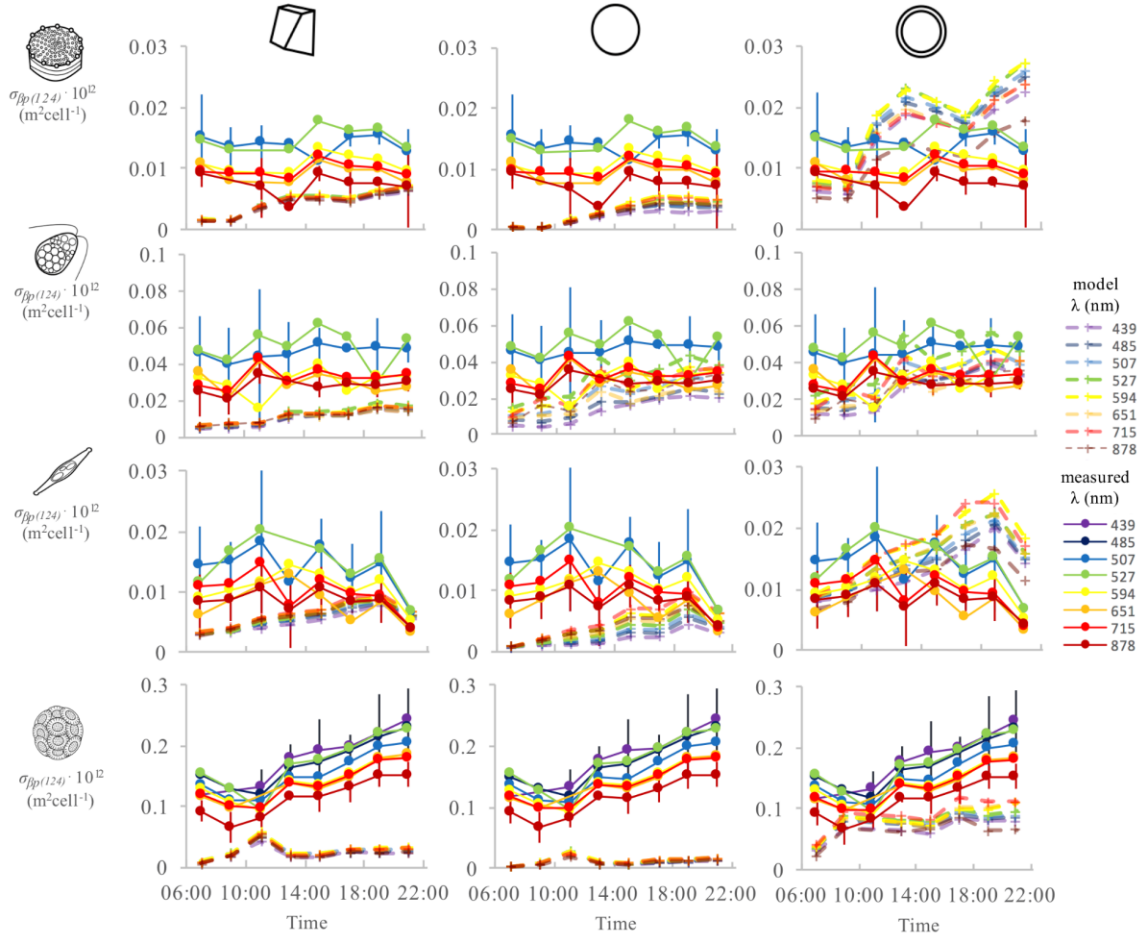


Fig.35: Diel variations the attenuation cross-section ($\sigma_{\beta p(124)}$) for the measurements (full lines) and hexahedral, homogeneous spherical and coated spherical models (dashed). Errors bars represent the standard deviations of the measurements for the shortest and longest wavelengths shown.

We correlated the IOPs cross sections with carbon (C) and chlorophyll (Chl) per cell, as well as the cell diameter (Table 3). We consider a correlation strong when the coefficient of determination is greater than 0.5 and weak when it is between 0.25 and 0.5, while we consider that there is essentially no correlation below 0.25. The $\sigma_a(677)$ correlated strongly with C and Chl per cell for *T. pseudonana* and *D. tertiolecta*. The latter also had a strong correlation of $\sigma_a(677)$ with cell diameter. $\sigma_a(677)$ had only weak correlations with C and Chl per cell for *P. tricornutum* and no correlations with any of the factors for *E. huxleyi*. The $\sigma_c(715)$ correlates with C and Chl per cell for *T. pseudonana* and only $C/cell$ for *E. huxleyi*. It also correlated with C and Chl per cell for *P. tricornutum*. The backscattering cross section correlates with nothing we tested for the diatoms, but correlates with $Chl/cell$ for *D. tertiolecta*. It also correlates with $C/cell$ for *E. huxleyi*. The cell diameter had weak correlations with σ_c and showed no correlation with σ_{bb} of all species except for a weak correlation for *E. huxleyi*, indicating that it is generally not the factor driving diel changes in the IOPs across different species.

Table 3: Coefficients of determination (r^2) of $\sigma_a(715)$ ($\text{m}^2 \cdot \text{cell}^{-1}$), $\sigma_c(715)$ ($\text{m}^2 \cdot \text{cell}^{-1}$) and $\sigma_{bb}(715)$ ($\text{m}^2 \cdot \text{cell}^{-1}$) (to avoid the effect of absorption) with intracellular carbon content (C/cell , $\mu\text{g} \cdot \text{cell}^{-1}$), intracellular *Chl* concentration ($\mu\text{g} \cdot \text{cell}^{-1}$) and cell diameter (μm). Coefficients of determination larger than 0.50 are in bold font and those between 0.25 and 0.5 are underlined.

		C/cell	Chl/cell	diameter
<i>T. pseudonana</i>	$\sigma_a(677)$	0.57	0.77	<u>0.31</u>
	$\sigma_c(715)$	0.89	0.54	<u>0.37</u>
	$\sigma_{bb}(715)$	0.09	0.15	0.02
<i>D. tertiolecta</i>	$\sigma_a(677)$	0.52	0.70	0.68
	$\sigma_c(715)$	<u>0.27</u>	0.71	<u>0.45</u>
	$\sigma_{bb}(715)$	0.15	0.54	0.17
<i>P. tricornutum</i>	$\sigma_a(677)$	0.44	<u>0.46</u>	<u>0.26</u>
	$\sigma_c(715)$	0.79	0.70	<u>0.29</u>
	$\sigma_{bb}(715)$	0.00	0.06	0.06
<i>E. huxleyi</i>	$\sigma_a(677)$	0.10	0.23	0.00
	$\sigma_c(715)$	0.71	0.20	<u>0.27</u>
	$\sigma_{bb}(715)$	0.84	<u>0.45</u>	<u>0.26</u>

5. Discussion

5.1. Quality of the measurements and calculations

We discussed the quality of our backscattering measurements in Poulin et al. [86]. We took the utmost care to reduce the impact of small particles in our measurements, and the only small particles that could affect the measurements are those that were present in the cultures, that we also were careful to minimize by diluting every day with sterile 0.2 μm filtered culture medium and working in sterile conditions. We did not measure the particles smaller than a radius of 1.12 μm . While they certainly increase slightly the IOPs measured; the sensitivity analysis suggests that this would be a minor impact, (always less than 25%). It is, therefore, unlikely that they would influence the diel variations. Given these observation, we computed most of our modelling comparison with a Junge slope of 0, representing constant particles for all small size, equal to those measured at the smallest bin measured by the Coulter Counter.

The use of the volume-equivalent spherical diameter can also be a source of uncertainty in the model results, especially for the species that are further from the spherical shape, for which it is difficult to find a representative diameter. Another choice could have been area equivalent diameter, which would have resulted, for example, in diameters 90.95 % of the volume-equivalent spherical diameter we used if we assumed a cubical shape.

As described in the methodology, the imaginary part of the refractive index was estimated using the measured absorption coefficients. Consequently, the performance of our models depends on the measurements of absorption. This would directly affect the results for absorption, so it is important to take that into account when interpreting our results. It should not have a major

impact however, as our sensitivity analyses show that variations in cell size have more impact on modelled absorption than the imaginary part of the refractive index.

5.2. Comparison with literature

Our results showed that homogeneous models can reproduce measurements of attenuation and absorption, but not backscattering, which is consistent with earlier studies [35, 37, 70, 71]. We also observed that a coated spherical model can represent the measurements reasonably, even for backscattering. There have been many modelling studies of the increase of backscattering cross-section with the inclusion of a second or third layer in spherical models [34, 37, 44, 65, 66]. We show here that this increase is adequate to represent phytoplankton cells backscattering.

Our sensitivity analyses show that the refractive index of the shell has a large impact on model outputs. Varying its value by an amount comparable to what could be attributed to uncertainty in measurements and its impacts on the backscattering ratio was greater than 25% differences in radius (for the species that possess a shell). The importance of the shell's refractive index on backscattering has been noted before [34, 101].

Our findings regarding the impact of shape versus shells is similar to those of Quirantes and Bernard [64] who compared the spheroidal versus the spherical model with and without shells: the inclusion of a shell in the spherical models had more influence on backscattering than the shape of the cells (here asymmetrical hexahedral vs spherical). Total scattering, however, is more influenced by shape.

Diel variations of the IOPs and models show that the variations in cell number have the largest impact on the diel variations of optical properties. However, the attenuation cross-sections and

the correlations with absorption and backscattering cross-sections show that diel variations of the measurements are not only due to cell numbers and are affected by cellular structure. Ackleson et al. [102] also found that short term light induced variations of phytoplankton attenuation and cellular scattering were likely independent of biomass and more influenced by cellular structure. The cell structures were not modeled herein, even if the values obtained by the models are close to the measurements for the most part. The inclusion of a shell with a refractive index representative of silica or calcite gave good results for the species that possess those shells. Other studies represented chloroplasts as an outer layer in models, and the inclusion of a shell does increase backscattering, but our results show that a refractive index representative of chloroplasts (between 1.02 and 1.06 in Aas [72]) is too low to reach the level of the measurements. Also, Svensen et al. [103] found that a mutant of *Chlamydomonas reinhardtii* that does not possess a cell wall scatters significantly less than the regular strain that has a cell wall, indicating that outer layers of model could be better represented by refractive indices and thicknesses that represent the cell wall instead of the chloroplasts. The correlations we observed could also indicate this; the diatoms' backscattering cross-sections do not correlate with any of our measurements (Carbon, *Chl* and cell size). Perhaps it is more correlated with shell characteristics. Also, while diel variations of frustules have not been studied, Moutier et al. [101] found that frustule thickness varies depending on the growth phase; this would change during the day for synchronized or partially synchronized populations. *E. huxleyi* does show a correlation between the backscattering cross-section and carbon. We removed the calcite by decarbonating our POC samples, but it is possible that a significant part of *E. huxleyi*'s intracellular carbon was in the process of becoming calcite [104] and correlates with backscattering. Also, for *D. tertiolecta*, which does not possess a shell, the backscattering cross section correlates with the number of

cells and intracellular chlorophyll. This and the fact that the model including a shell gave better results than the homogeneous spheres could mean that for that species, chloroplasts or other internal structures could be treated as an outer layer in models, like Moutier et al. [101] and Bernard et al. [45] did. Possible improvements to the models could include diel variations in frustule or coccolith thickness and/or refractive index. More research would be needed to understand those variations.

5.3.Implications

We showed that spherical models can fit the measurements of backscattering when a shell is included, and that in cultures, an important amount of backscattering due to small particles is not necessary to obtain closure. This agrees with the conclusions of Vaillancourt et al. [38], Dall’Olmo et al. [46], Whitmire et al. [41] and Martinez-Vicente et al. [47] and who found that phytoplankton could be responsible for more backscattering than previously thought. However, in our simulation of small particles we did not include those of sizes that are in the “dissolved domain”, i.e., of diameter $< 0.2 \mu\text{m}$ because we believe in our controlled experiment the existence of these very small particles is limited. Also, we found that if the Junge distribution has a slope of 5 for particles of sizes $0.2 - 1.12 \mu\text{m}$, which would be unrealistic in our laboratory measurements, but can occur in some cases in the ocean, the small particles would exert a same range of the effect as the shell properties or 25% change in cell radius. Flow cytometry to study the scattering of phytoplankton (e.g. [67, 101, 102, 105-108]) independently from other particles, would provide a complementary information to this study. Again, though, the model used to invert the flow cytometry measurements will have to be carefully chosen.

The hexahedral model that we used could possibly be improved by including a shell. It could be proven useful in populations where the non-sphericity of the phytoplankton is known. However, the simplicity of calculation of the coated spherical model is an advantage and it would be necessary to prove the superiority of the coated hexahedral model to make it worth using routinely. The randomly oriented spheroid model (e.g., [37]) that reduces the ‘rainbow effects’ associated with perfect spheres may also provide an intermediate level of complexity/computational burden and may be interesting for some applications.

6. Conclusion

We found that the coated sphere model represented overall results better than the homogeneous sphere and hexahedral models, which can reproduce the measurements for the elongated species that we studied, but underestimate the backscattering of the other species. The small particles that we included to represent calcite coccoliths for *E. huxleyi* or bacteria for the other species, did not make a significant contribution to the optical signals in our cultures. Our results also suggest that the representation of cellular structure is more important than the shape of the modelled particles to reproduce the inherent optical properties, especially for backscattering. The differences between species that we observed show that community structure must be considered when studying IOPs. In situ measurements will be necessary to determine if our models can reproduce the diel variations of backscattering that is observed in the ocean.

7. Acknowledgments

We thank an anonymous reviewer and Dr. Steve Ackleson for their helpful and constructive criticism of this article. We thank Gabriel Diab, Pascale Roy, Tara Tapics, Simon Meilleur-Lacasse, Dr. Jennifer Marie-Rose Vandenhecke, Patrick Cliche, Dominic Bélanger, Dominique Marie and Marieke Beaulieu for their invaluable help before and during the experiments.

We are grateful to Dr. Emmanuel Boss for loaning the ac-s and ECO BB9 used and comments.

Thanks to Dr. Darius Stramski, Dr. Mike Twardowski, Dr. David Antoine and Dr. Malika Kheireddine for their comments on earlier versions of this work.

The FRQNT, NSERC and Canada Research Chair program funded this research.

XZ's work was supported by NASA [NNX13AN72G, NNX15AC85G] and NSF [1458962].

PY acknowledges support by the U.S. National Science Foundation under Grant OCE-1459180.

8. References

- [1] Field, C. B., Behrenfeld, M. J., Randerson, J. T., and Falkowski, P. 1998. Primary production of the biosphere: integrating terrestrial and oceanic components. *Science* 281: 237-40.
- [2] Gordon, H.R., Brown, O.B., Evans, R.H., Brown, J.W., Smith, R.C., Baker, K.S. and Clark, D.K., 1988. A semianalytic radiance model of ocean color. *Journal of Geophysical Research: Atmospheres*, 93(D9), pp.10909-10924.
- [3] Morel, A., 1988. Optical modeling of the upper ocean in relation to its biogenous matter content (case I waters). *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 93(C9), pp.10749-10768.
- [4] Morel, A., Antoine, D. and Gentili, B., 2002. Bidirectional reflectance of oceanic waters: accounting for Raman emission and varying particle scattering phase function. *Applied Optics*, 41(30), pp.6289-6306.
- [5] Siegel, D.A., Dickey, T.D., Washburn, L., Hamilton, M.K. and Mitchell, B.G., 1989. Optical determination of particulate abundance and production variations in the oligotrophic ocean. *Deep Sea Research Part A. Oceanographic Research Papers*, 36(2), pp.211-222.
- [6] Cullen, J.J., Lewis, M.R., Davis, C.O. and Barber, R.T., 1992. Photosynthetic characteristics and estimated growth rates indicate grazing is the proximate control of primary production in the equatorial Pacific. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 97(C1), pp.639-654.
- [7] Stramska, M. and Dickey, T.D., 1992. Variability of bio-optical properties of the upper ocean associated with diel cycles in phytoplankton population. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 97(C11), pp.17873-17887.

- [8] Gardner, W. D., Walsh, I. D., and Richardson, M. J. 1993. Biophysical forcing of particle production and distribution during a spring bloom in the North Atlantic. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography* 40: 171-195.
- [9] Bishop, J.K., Calvert, S.E. and Soon, M.Y., 1999. Spatial and temporal variability of POC in the northeast Subarctic Pacific. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 46(11), pp.2699-2733.
- [10] Claustre, H., Morel, A., Babin, M., Cailliau, C., Marie, D., Marty, J. -C., Tailliez, D., and Vaulot, D. 1999. Variability in particle attenuation and chlorophyll fluorescence in the tropical Pacific: Scales, patterns, and biogeochemical implications. *Journal of Geophysical Research: Oceans* 104: 3401-3422.
- [11] Gardner, W.D., Gundersen, J.S., Richardson, M.J. and Walsh, I.D., 1999. The role of seasonal and diel changes in mixed-layer depth on carbon and chlorophyll distributions in the Arabian Sea. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 46(8), pp.1833-1858.
- [12] Behrenfeld, M.J. and Boss, E., 2003. The beam attenuation to chlorophyll ratio: an optical index of phytoplankton physiology in the surface ocean?. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, 50(12), pp.1537-1549.
- [13] Gernez, P., Antoine, D. and Huot, Y., 2011. Diel cycles of the particulate beam attenuation coefficient under varying trophic conditions in the northwestern Mediterranean Sea: Observations and modeling. *Limnology and Oceanography*, 56(1), pp.17-36.
- [14] Durand, M.D. and Olson, R.J., 1996. Contributions of phytoplankton light scattering and cell concentration changes to diel variations in beam attenuation in the equatorial Pacific

from flow cytometric measurements of pico-, ultra-and nanoplankton. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 43(4-6), pp.891-906.

- [15] Claustre, H., Huot, Y., Obernosterer, I., Gentili, B., Tailliez, D. and Lewis, M., 2008. Gross community production and metabolic balance in the South Pacific Gyre, using a non intrusive bio-optical method. *Biogeosciences*, 4(5), pp. 463–474.
- [16] Kheireddine, M. and Antoine, D., 2014. Diel variability of the beam attenuation and backscattering coefficients in the northwestern Mediterranean Sea (BOUSSOLE site). *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 119(8), pp.5465-5482.
- [17] Vault, D. and Marie, D., 1999. Diel variability of photosynthetic picoplankton in the equatorial Pacific. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 104(C2), pp.3297-3310.
- [18] Sosik, H.M., Olson, R.J., Neubert, M.G., Shalapyonok, A. and Solow, A.R., 2003. Growth rates of coastal phytoplankton from time-series measurements with a submersible flow cytometer. *Limnology and Oceanography*, 48(5), pp.1756-1765.
- [19] Preisendorfer, R. W. 1976. *Hydrologic optics. Vol. I. Introduction.* US Department of Commerce, National Oceanic and Atmospheric Administration. Environment Research Laboratory.
- [20] Oishi, T., 1990. Significant relationship between the backward scattering coefficient of sea water and the scatterance at 120. *Applied Optics*, 29(31), pp.4658-4665.
- [21] Boss, E., and Pegau, W. S. 2001. Relationship of light scattering at an angle in the backward direction to the backscattering coefficient. *Appl Opt* 40: 5503-7.
- [22] Zhang, X., Boss, E. and Gray, D.J., 2014. Significance of scattering by oceanic particles at angles around 120 degree. *Optics express*, 22(25), pp.31329-31336.

- [23] Zhang, X., Fournier, G.R. and Gray, D.J., 2017. Interpretation of scattering by oceanic particles around 120 degrees and its implication in ocean color studies. *Optics Express*, 25(4), pp.A191-A199.
- [24] Bidigare, R. R., Morrow, J. H., and Kiefer, D. A. 1989. Derivative analysis of spectral absorption by photosynthetic pigments in the western Sargasso Sea. *Journal of Marine Research* 47: 323-341.
- [25] Gordon, H. R., and Morel, A. Y. 1983. Remote assessment of ocean color for interpretation of satellite visible imagery: A review, Springer Science & Business Media.
- [26] Loisel, H., and Morel, A. 1998. Light scattering and chlorophyll concentration in case 1 waters: A reexamination. *Limnology and Oceanography* 43: 847-858.
- [27] Behrenfeld, M. J., Boss, E., Siegel, D. A., and Shea, D. M. 2005. Carbon-based ocean productivity and phytoplankton physiology from space. *Global biogeochemical cycles* 19.
- [28] Morel, A., and Bricaud, A. 1986. Inherent optical properties of algal cells including picoplankton: theoretical and experimental results. *Can. Bull. Fish. Aquat. Sci* 214: 521-559.
- [29] Morel, A. and Ahn, Y.H., 1990. Optical efficiency factors of free-living marine bacteria: Influence of bacterioplankton upon the optical properties and particulate organic carbon in oceanic waters. *Journal of Marine Research*, 48(1), pp.145-175.
- [30] Morel, A. and Ahn, Y.H., 1991. Optics of heterotrophic nanoflagellates and ciliates: A tentative assessment of their scattering role in oceanic waters compared to those of bacterial and algal cells. *Journal of Marine Research*, 49(1), pp.177-202.

- [31] Ahn, Y. -H., Bricaud, A., and Morel, A. 1992. Light backscattering efficiency and related properties of some phytoplankters. *Deep Sea Research Part A. Oceanographic Research Papers* 39: 1835-1855.
- [32] Stramski, D. and Mobley, C.D., 1997. Effects of microbial particles on oceanic optics: A database of single-particle optical properties. *Limnology and Oceanography*, 42(3), pp.538-549.
- [33] Stramski, D., Bricaud, A., and Morel, A. 2001. Modeling the inherent optical properties of the ocean based on the detailed composition of the planktonic community. *Appl Opt* 40: 2929-45.
- [34] Kitchen, J.C. and Zaneveld, J.R.V., 1992. A three-layered sphere model of the optical properties of phytoplankton. *Limnology and oceanography*, 37(8), pp.1680-1690.
- [35] Zaneveld, J.R.V. and Kitchen, J.C., 1995. The variation in the inherent optical properties of phytoplankton near an absorption peak as determined by various models of cell structure. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 100(C7), pp.13309-13320.
- [36] Stramski, D., and Piskozub, J. 2003. Estimation of scattering error in spectrophotometric measurements of light absorption by aquatic particles from three-dimensional radiative transfer simulations. *Appl Opt* 42: 3634-46.
- [37] Quirantes, A. and Bernard, S., 2004. Light scattering by marine algae: two-layer spherical and nonspherical models. *Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer*, 89(1), pp.311-321.
- [38] Vaillancourt, R.D., Brown, C.W., Guillard, R.R. and Balch, W.M., 2004. Light backscattering properties of marine phytoplankton: relationships to cell size, chemical composition and taxonomy. *Journal of plankton research*, 26(2), pp.191-212.

- [39] Clavano, W. R., Boss, E. and Karp-Boss, L. (2007) “Inherent Optical Properties of Non-Spherical Marine-Like Particles - From Theory to Observations,” *Oceanography and Marine Biology: An Annual Review* 45, 1–38
- [40] Stramski, D., Boss, E., Bogucki, D. and Voss, K.J., 2004. The role of seawater constituents in light backscattering in the ocean. *Progress in Oceanography*, 61(1), pp.27-56.
- [41] Whitmire, A. L., Pegau, W. S., Karp-Boss, L., Boss, E., and Cowles, T. J. 2010. Spectral backscattering properties of marine phytoplankton cultures. *Opt Express* 18: 15073-93.
- [42] Stramski, D. and Kiefer, D.A., 1991. Light scattering by microorganisms in the open ocean. *Progress in Oceanography*, 28(4), pp.343-383.
- [43] Bohren, C.F. and Singham, S.B., 1991. Backscattering by nonspherical particles: a review of methods and suggested new approaches. *Journal of Geophysical Research: Atmospheres*, 96(D3), pp.5269-5277.
- [44] Bricaud, A., Zaneveld, J.R.V. and Kitchen, J.C., 1992, December. Backscattering efficiency of coccolithophorids: use of a three-layered sphere model. In *San Diego'92* (pp. 27-33). International Society for Optics and Photonics.
- [45] Bernard, S., Probyn, T.A. and Quirantes, A., 2009. Simulating the optical properties of phytoplankton cells using a two-layered spherical geometry. *Biogeosciences Discussions*, 6(1).
- [46] Dall'Olmo, G., Westberry, T.K., Behrenfeld, M.J., Boss, E. and Slade, W.H., 2009. Significant contribution of large particles to optical backscattering in the open ocean. *Biogeosciences*, 6(6), pp.947-967.
- [47] Martinez-Vicente, V., Tilstone, G. H., Sathyendranath, S., Miller, P. I., & Groom, S. B. (2012). Contributions of phytoplankton and bacteria to the optical backscattering

- coefficient over the Mid-Atlantic Ridge. *Marine Ecology Progress Series*, 445, 37-51.
- [48] Huot, Y., Morel, A., Twardowski, M.S., Stramski, D. and Reynolds, R.A., 2007. Particle optical backscattering along a chlorophyll gradient in the upper layer of the eastern South Pacific Ocean. *Biogeosciences Discussions*, 4(6), pp.4571-4604.
- [49] Hillebrand, H., Dürselen, C.D., Kirschtel, D., Pollinger, U. and Zohary, T., 1999. Biovolume calculation for pelagic and benthic microalgae. *Journal of phycology*, 35(2), pp.403-424.
- [50] Sun, J. and Liu, D., 2003. Geometric models for calculating cell biovolume and surface area for phytoplankton. *Journal of plankton research*, 25(11), pp.1331-1346.
- [51] Waterman, P.C., 1971. Symmetry, unitarity, and geometry in electromagnetic scattering. *Physical review D*, 3(4), p.825.
- [52] Mishchenko, M.I., 2000. Calculation of the amplitude matrix for a nonspherical particle in a fixed orientation. *Applied Optics*, 39(6), pp.1026-1031.
- [53] Zhai, P.W., Hu, Y., Trepte, C.R., Winker, D.M., Josset, D.B., Lucker, P.L. and Kattawar, G.W., 2013. Inherent optical properties of the coccolithophore: *Emiliana huxleyi*. *Optics express*, 21(15), pp.17625-17638.
- [54] Gordon, H.R. and Du, T., 2001. Light scattering by nonspherical particles: application to coccoliths detached from *Emiliana huxleyi*. *Limnology and Oceanography*, 46(6), pp.1438-1454.
- [55] Gordon, H.R., 2006. Backscattering of light from disklike particles: is fine-scale structure or gross morphology more important?. *Applied optics*, 45(27), pp.7166-7173.

- [56] Bi, L., and P. Yang, 2015: Impact of calcification state on the inherent optical properties of *Emiliania huxleyi* coccoliths and coccolithophores, *J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transfer*, 155, 10-21.
- [57] Dauchet, J., Blanco, S., Cornet, J.F. and Fournier, R., 2015. Calculation of the radiative properties of photosynthetic microorganisms. *Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer*, 161, pp.60-84.
- [58] Bi, L., Yang, P., Kattawar, G.W. and Kahn, R., 2010. Modeling optical properties of mineral aerosol particles by using nonsymmetric hexahedra. *Applied optics*, 49(3), pp.334-342.
- [59] Sun, B., Yang, P., Kattawar, G.W. and Zhang, X., 2017. Physical-geometric optics method for large size faceted particles. *Optics Express*, 25(20), pp.24044-24060.
- [60] Xu, G., Sun, B., Brooks, S.D., Yang, P., Kattawar, G.W. and Zhang, X., 2017. Modeling the inherent optical properties of aquatic particles using an irregular hexahedral ensemble. *Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer*, 191, pp.30-39.
- [61] Zhang, X., Huot, Y., Gray, D.J., Weidemann, A. and Rhea, W.J., 2013. Biogeochemical origins of particles obtained from the inversion of the volume scattering function and spectral absorption in coastal waters. *Biogeosciences*, 10(9), p.6029.
- [62] Zhang, X. and Gray, D.J., 2015. Backscattering by very small particles in coastal waters. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 120(10), pp.6914-6926.
- [63] Xu, Y.L. and Gustafson, B.Å., 2001. A generalized multiparticle Mie-solution: further experimental verification. *Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer*, 70(4), pp.395-419.

- [64] Quirantes, A. and Bernard, S., 2006. Light-scattering methods for modelling algal particles as a collection of coated and/or nonspherical scatterers. *Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer*, 100(1), pp.315-324.
- [65] Meyer, R.A., 1979. Light scattering from biological cells: dependence of backscatter radiation on membrane thickness and refractive index. *Applied optics*, 18(5), pp.585-588.
- [66] Quinby-Hunt, M.S., Hunt, A.J., Lofftus, K. and Shapiro, D., 1989. Polarized-light scattering studies of marine *Chlorella*. *Limnology and oceanography*, 34(8), pp.1587-1600.
- [67] Moutier, W., Duforêt-Gaurier, L., Thyssen, M., Loisel, H., Mériaux, X., Courcot, L., Dessailly, D. and Alvain, S., 2016. Scattering of individual particles from cytometry: tests on phytoplankton cultures. *Optics express*, 24(21), pp.24188-24212.
- [68] Matthews, M.W. and Bernard, S., 2013. Characterizing the absorption properties for remote sensing of three small optically-diverse South African reservoirs. *Remote Sensing*, 5(9), pp.4370-4404.
- [69] Meyer, R.A. and Brunsting, A.L.B.E.R.T., 1975. Light scattering from nucleated biological cells. *Biophysical journal*, 15(3), pp.191-203.
- [70] Bricaud, A. and Morel, A., 1986. Light attenuation and scattering by phytoplanktonic cells: a theoretical modeling. *Applied Optics*, 25(4), pp.571-580.
- [71] Bricaud, A., Bédhomme, A.L. and Morel, A., 1988. Optical properties of diverse phytoplanktonic species: experimental results and theoretical interpretation. *Journal of Plankton Research*, 10(5), pp.851-873.
- [72] Aas, E., 1996. Refractive index of phytoplankton derived from its metabolite composition. *Journal of Plankton Research*, 18(12), pp.2223-2249.

- [73] Stramski, D. and Morel, A., 1990. Optical properties of photosynthetic picoplankton in different physiological states as affected by growth irradiance. *Deep Sea Research Part A. Oceanographic Research Papers*, 37(2), pp.245-266.
- [74] Stramski, D. and Reynolds, R.A., 1993. Diel variations in the optical properties of a marine diatom. *Limnology and Oceanography*, 38(7), pp.1347-1364.
- [75] Stramski, D., Shalapyonok, A. and Reynolds, R.A., 1995. Optical characterization of the oceanic unicellular cyanobacterium *Synechococcus* grown under a day-night cycle in natural irradiance. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 100(C7), pp.13295-13307.
- [76] Hodgson, R.T. and Newkirk, D.D., 1975. Pyridine immersion: a technique for measuring the refractive index of marine particles. *Ocean Optics. Proceedings August*, pp.19-20.
- [77] van de Hulst, *Light scattering by small particles*, Wiley, New York, 470 p, 1957.
- [78] Stramski, D., Morel, A. and Bricaud, A., 1988. Modeling the light attenuation and scattering by spherical phytoplanktonic cells: a retrieval of the bulk refractive index. *Applied optics*, 27(19), pp.3954-3956.
- [79] Campbell, J.W., 1995. The lognormal distribution as a model for bio-optical variability in the sea. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 100(C7), pp.13237-13254.
- [80] Zhang, X., Gray, D.J., Huot, Y., You, Y. and Bi, L., 2012. Comparison of optically derived particle size distributions: scattering over the full angular range versus diffraction at near forward angles. *Applied optics*, 51(21), pp.5085-5099.
- [81] Bader, H., 1970. The hyperbolic distribution of particle sizes. *Journal of Geophysical Research*, 75(15), pp.2822-2830.
- [82] Brown, O.B. and Gordon, H.R., 1974. Size–refractive index distribution of clear coastal water particulates from light scattering. *Applied optics*, 13(12), pp.2874-2881.

- [83] Kitchen, J.C. and Zaneveld, J.R.V., 1990. On the noncorrelation of the vertical structure of light scattering and chlorophyll α in case I waters. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 95(C11), pp.20237-20246.
- [84] Claustre, H., Bricaud, A., Babin, M., Bruyant, F., Guillou, L., Le Gall, F., Marie, D. and Partensky, F., 2002. Diel variations in *Prochlorococcus* optical properties. *Limnology and Oceanography*, 47(6), pp.1637-1647.
- [85] Ohi, N., Ishiwata, Y. and Taguchi, S., 2002. Diel patterns in light absorption and absorption efficiency factors of *isochrysis galbana* (prymnesiophyceae) 1. *Journal of phycology*, 38(4), pp.730-737.
- [86] Poulin, C., Antoine, D. and Huot, Y., 2018. Diurnal variations of the optical properties of phytoplankton in a laboratory experiment and their implication for using inherent optical properties to measure biomass. *Optics Express*, 26(2), pp.711-729.
- [87] Welschmeyer, N.A., 1994. Fluorometric analysis of chlorophyll a in the presence of chlorophyll b and pheopigments. *Limnology and Oceanography*, 39(8), pp.1985-1992.
- [88] MacIntyre, H.L. and Cullen, J.J., 2005. Using cultures to investigate the physiological ecology of microalgae. *Algal culturing techniques*, pp.287-326.
- [89] Zhang, X., Hu, L., & He, M. X. (2009). Scattering by pure seawater: effect of salinity. *Optics Express*, 17(7), 5698-5710.
- [90] Sullivan, J.M., Twardowski, M.S., Ronald, J., Zaneveld, V. and Moore, C.C., 2013. Measuring optical backscattering in water. *Light Scattering Reviews* 7, pp.189-224.
- [91] Hildebrand, M., York, E., Kelz, J.I., Davis, A.K., Frigeri, L.G., Allison, D.P. and Doktycz, M.J., 2006. Nanoscale control of silica morphology and three-dimensional structure during diatom cell wall formation. *Journal of Materials Research*, 21(10), pp.2689-2698.

- [92] Godoi, R.H.M., Aerts, K., Harlay, J., Kaegi, R., Ro, C.U., Chou, L. and Van Grieken, R., 2009. Organic surface coating on Coccolithophores-*Emiliana huxleyi*: Its determination and implication in the marine carbon cycle. *Microchemical Journal*, 91(2), pp.266-271.
- [93] Zhang, X., 2009, ZhangMie [Matlab function] Accessed January 2017.
- [94] Bi, L., Yang, P., Kattawar, G.W. and Kahn, R., 2010. Modeling optical properties of mineral aerosol particles by using nonsymmetric hexahedra. *Applied optics*, 49(3), pp.334-342.
- [95] Jonasz, M., 1987. Nonsphericity of suspended marine particles and its influence on light scattering. *Limnology and oceanography*, 32(5), pp.1059-1065.
- [96] Witkowski, K., Woliński, L., Turzyński, Z., Gedziorowska, D. and Zielifiski, A., 1993. The investigation of kinetic growth of *Chlorella vulgaris* cells by the method of integral and dynamic light scattering. *Limnology and oceanography*, 38(7), pp.1365-1372.
- [97] Witkowski, K., Król, T., Zieliriński, A. and Kuteń, E., 1998. A light-scattering matrix for unicellular marine phytoplankton. *Limnology and oceanography*, 43(5), pp.859-869.
- [98] Janssen, M., Bathke, L., Marquardt, J., Krumbein, W.E. and Rhiel, E., 2001. Changes in the photosynthetic apparatus of diatoms in response to low and high light intensities. *International Microbiology*, 4(1), pp.27-33.
- [99] Volten, H., De Haan, J.F., Hovenier, J.W., Schreurs, R., Vassen, W., Dekker, A.G., Hoogenboom, H.J., Charlton, F. and Wouts, R., 1998. Laboratory measurements of angular distributions of light scattered by phytoplankton and silt. *Limnology and Oceanography*, 43(6), pp.1180-1197.

- [100] Voss, K.J., Balch, W.M. and Kilpatrick, K.A., 1998. Scattering and attenuation properties of *Emiliana huxleyi* cells and their detached coccoliths. *Limnology and Oceanography*, 43(5), pp.870-876.
- [101] Moutier, W., Duforêt-Gaurier, L., Thyssen, M., Loisel, H., Mériaux, X., Courcot, L., Dessailly, D., Rêve, A.H., Grégori, G., Alvain, S. and Barani, A., 2017. Evolution of the scattering properties of phytoplankton cells from flow cytometry measurements. *PloS one*, 12(7), p.e0181180.
- [102] Ackleson, S.G., Cullen, J.J., Brown, J. and Lesser, M., 1993. Irradiance-induced variability in light scatter from marine phytoplankton in culture. *Journal of Plankton Research*, 15(7), pp.737-759.
- [103] Svensen, Ø., Frette, Ø. and Erga, S.R., 2007. Scattering properties of microalgae: the effect of cell size and cell wall. *Applied optics*, 46(23), pp.5762-5769.
- [104] Fernández, E., Marañón, E. and Balch, W.M., 1996. Intracellular carbon partitioning in the coccolithophorid *Emiliana huxleyi*. *Journal of marine systems*, 9(1-2), pp.57-66.
- [105] Ackleson, S.G., Spinrad, R.W., Yentsch, C.M., Brown, J. and Korjeff-Bellows, W., 1988. Phytoplankton optical properties: flow cytometric examinations of dilution-induced effects. *Applied optics*, 27(7), pp.1262-1269.
- [106] Green, R.E., Sosik, H.M. and Olson, R.J., 2003. Contributions of phytoplankton and other particles to inherent optical properties in New England continental shelf waters. *Limnology and oceanography*, 48(6), pp.2377-2391.
- [107] Duforêt-Gaurier, L., Moutier, W., Guiselin, N., Thyssen, M., Dubelaar, G., Mériaux, X., Courcot, L., Dessailly, D. and Loisel, H., 2015. Determination of backscattering cross

section of individual particles from cytometric measurements: a new methodology. *Optics express*, 23(24), pp.31510-31533.

- [108] Agagliate, J., Röttgers, R., Twardowski, M.S. and McKee, D., 2018. Evaluation of a flow cytometry method to determine size and real refractive index distributions in natural marine particle populations. *Applied optics*, 57(7), pp.1705-1716.

7. Conclusion

Pour cette thèse, nous avons utilisé les résultats d'expériences de laboratoire en conditions contrôlées et des modèles de propriétés optiques afin de mieux comprendre les facteurs qui influencent les variations journalières des propriétés optiques du phytoplancton observées dans le milieu naturel et l'applicabilité des modèles étudiés au phytoplancton.

Les variations journalières des coefficients d'atténuation, de diffusion et d'absorption étaient généralement en accord avec la littérature.

Nous avons constaté que le coefficient d'atténuation spécifique au carbone varie durant la journée et de façon plus importante encore entre les espèces étudiées. Cela pourrait avoir une importance pour les estimations de la production primaire dans l'océan où la valeur du coefficient d'atténuation spécifique au carbone était supposée constante. Il faudra dans le futur déterminer si les variations journalières et inter-espèces du coefficient d'atténuation spécifique au carbone que nous avons observées en laboratoire se retrouvent en mer. Cela pourrait potentiellement permettre de préciser les estimations de production primaire en mer. Pour ce faire, il faudrait mesurer le coefficient d'atténuation et la concentration de carbone à plusieurs heures au même endroit, ainsi qu'à différents endroits, préférentiellement lors d'efflorescences connues de certains types de phytoplancton, comme les coccolithophores ou les diatomées.

Nous avons été les premiers à observer des variations journalières du coefficient de rétrodiffusion en laboratoire sur des cultures, ce qui nous amène à rejeter notre hypothèse nulle. Étant donné les précautions que nous avons prises pour nous assurer que les petites particules n'aient pas d'influence importante sur les résultats, nous pouvons supposer que le phytoplancton était responsable de ces variations dans nos cultures. Cela indique que le phytoplancton pourrait être responsable d'une partie des variations journalières du coefficient de rétrodiffusion observées dans le milieu naturel dans certaines eaux. Il faudrait par contre plus d'études en mer dans différents milieux pour mieux comprendre l'étendue de sa contribution.

Nos résultats ont montré que les changements journaliers de la rétrodiffusion du phytoplancton ne sont pas nécessairement directement proportionnels aux changements de la diffusion. Il est donc important de prendre de grandes précautions avant d'utiliser les variations journalières du

coefficient de rétrodiffusion comme indicateur des changements journaliers de la diffusion pour quantifier la production primaire dans l'océan. Les nombreuses observations des variations journalières de la diffusion observées en mer ne peuvent donc pas être appliquées directement pour interpréter le coefficient de rétrodiffusion.

Nos résultats suggèrent que le coefficient de rétrodiffusion peut donner de l'information sur la physiologie des cellules lorsque le phytoplancton est une source significative de rétrodiffusion. Nous avons aussi pu réaffirmer que l'observation des variations journalières des propriétés optiques du phytoplancton peut procurer d'importantes informations pour comprendre les processus biologiques et optiques qui ont lieu dans l'océan.

L'utilisation de l'ac-s, un instrument hyperspectral, a offert une grande résolution spectrale, mais nous a apporté peu de nouvelles informations sur les variations journalières de nos cultures, bien que nous ayons noté des changements journaliers dans les spectres de certaines propriétés optiques.

Notre étude des modèles des propriétés optiques a indiqué que la présence d'un grand nombre de petites particules fortement rétrodiffusantes n'était pas nécessaire pour que les modèles atteignent les niveaux des mesures de rétrodiffusion. Nous avons aussi pu déduire que ces particules n'avaient probablement pas un apport important dans les propriétés optiques de nos cultures et que nos observations étaient bien liées directement au phytoplancton.

Les modèles de particules possédant une couche externe se sont montrés plus performants que les modèles de particules homogènes pour représenter les propriétés optiques des cultures, particulièrement pour la rétrodiffusion. Les modèles de particules hexahédrales pouvaient atteindre les valeurs des mesures pour l'espèce ayant une forme allongée que nous avons étudiée, mais sous-estimaient la rétrodiffusion pour les autres.

Nos résultats indiquent que la représentation de la structure interne des cellules par l'ajout d'une couche dans les modèles est plus importante que la forme de la particule représentée dans ces modèles, surtout pour la rétrodiffusion. Les modèles de particules sphériques possédant une couche externe permettent d'obtenir des niveaux de rétrodiffusion équivalents aux mesures en cultures.

La majorité de nos résultats a montré des variations des propriétés optiques ou biologiques et leurs variations journalières entre les espèces étudiées. Il est donc primordial de tenir compte de la structure des communautés phytoplanctoniques lors d'études sur les propriétés optiques du phytoplancton, particulièrement en présence de coccolithophores, qui étaient souvent très différents des autres groupes étudiés.

Perspectives

Pour bien comprendre l'impact des couches externes des cellules, il sera nécessaire d'étudier plus en profondeur les liens entre les propriétés optiques et les composantes des couches externes. Premièrement, en laboratoire, on pourrait mesurer les propriétés optiques de cultures de différents genres de phytoplancton possédant des couches externes formées de différents composés. Par exemple, des diatomées avec frustules de silice, des coccolithophores avec coccolithes de calcite et des espèces sans couche externe comme *synechococcus*. En mesurant la fonction de diffusion ou au moins la diffusion totale et la rétrodiffusion et en quantifiant les couches externes en mesurant les composés qui y sont liés et en mesurant leur épaisseur, on pourrait déterminer si la rétrodiffusion est bien liée aux couches externes, comme les modèles pourraient le suggérer.

Par contre, les conclusions obtenues ainsi ne s'appliqueraient toujours qu'aux cas où le phytoplancton est une source significative de rétrodiffusion, ce qui est toujours incertain dans l'océan.

Bien que notre analyse de sensibilité ait démontré qu'une quantité réaliste de petites particules dans l'océan dans les eaux du cas 1 (pente de Junge de 4 ou 5) aurait un impact moindre ou équivalent sur la rétrodiffusion que la couche externe des cellules, il faudrait que des mesures viennent le confirmer. Il n'est pas évident de quantifier les particules d'un diamètre inférieur à 0.5 μm . Il pourrait être envisagé de filtrer de l'eau salée avec un filtre de 0.2 μm et d'y ajouter des nanoparticules (de taille supérieure à 0.2 μm) de silice ou de cellulose, par exemple, et de mesurer les propriétés optiques de cette eau avec différentes concentrations de particules. La silice et la cellulose sont des composés qu'on retrouve dans le phytoplancton et qui pourraient logiquement composer une partie des très petites particules présentes dans l'océan comme étant des fragments de phytoplancton. On pourrait ultimement ajouter des cellules de phytoplancton

avec couche externe au mélange pour voir ce qui domine la rétrodiffusion. On pourrait ensuite comparer avec les modèles pour voir si les observations sont en accord avec ceux-ci.

Dans l'océan, on pourrait filtrer l'eau de mer sur un filtre de 1 μm ou moins et comparer la rétrodiffusion de cette eau filtrée avec l'eau non filtrée, mais ce n'est pas simple. Des essais auraient été menés sans être concluants, (communication personnelle de Yannick Huot). De plus, l'océan, même si on se limite aux eaux de cas 1, est très variable dans sa composition. Il faudrait donc répéter ces mesures dans beaucoup de conditions différentes pour en tirer des conclusions. Les mesures des très petites particules sont un important facteur limitant pour déterminer de façon fiable l'influence des différents constituants de l'eau de mer à la rétrodiffusion. Lorsqu'on trouvera une façon reproductible et pratique de les mesurer, on obtiendra des informations potentiellement extrêmement importantes pour la télédétection de l'océan. Un instrument développé par Stramski et al. (2017) utilisant les mouvements Browniens pour la mesure des petites particules pourrait être utilisé.

Par ailleurs, nos observations des variations journalières sur des cultures nous indiquent qu'on pourrait tirer des informations intéressantes de l'étude des variations journalières de la biologie et des propriétés optiques de l'eau de mer dans le milieu naturel, ce qui pourrait être étudié. La bouée BOUSSOLE, au large, en mer Méditerranée, donne déjà d'importantes informations à cet effet. On y observe des variations journalières du coefficient d'atténuation et de rétrodiffusion. L'ajout d'instruments permettant d'obtenir la distribution de taille des particules ainsi que leur taxonomie, comme le FlowCytobot pour les petites particules et l'Imaging FlowCytobot pour les plus grandes permettrait de lier les observations journalières des propriétés optiques avec les constituants observés au même moment. Cela nous donnerait des indices sur ce qu'il serait possible d'observer par télédétection des variations journalières de l'océan.

À cet effet, le satellite géostationnaire GOCI permet d'observer les variations journalières de différents facteurs dans l'océan, dans les zones côtières où les concentrations de particules sont très grandes. GOCI II, prévu pour 2019, permettra vraisemblablement des observations avec des résolutions spatiale et spectrale plus précises, qui permettront d'améliorer la qualité des données et possiblement d'observer des variations journalières dans des eaux du cas 1. Il serait intéressant

d'avoir des bouées placées dans son champ de vision dans différentes zones, qui pourraient aussi permettre d'obtenir des informations importantes sur les observations de ce satellite.

Il y a finalement lieu d'espérer que toutes ces observations du phytoplancton permettront ultimement de mieux comprendre les variations de la production primaire dans l'océan, qui a une importance capitale pour le cycle du carbone sur la planète.

Références hors articles

Antoine, D. (1998). Apports de la télédétection spatiale de la «couleur de l'océan» à l'océanographie. *Océanie*, 24(2), 81-150.

Antoine, D., Chami, M., Claustre, H., d'Ortenzio, F., Morel, A., Bécu, G., ... & Scott, A. J. (2006). BOUSSOLE: a joint CNRS-INSU, ESA, CNES, and NASA ocean color calibration and validation activity.

Aas, E. (1996). Refractive index of phytoplankton derived from its metabolite composition. *Journal of Plankton Research*, 18(12), 2223-2249.

Arnon, D. I., ALLEN, M. B., & Whatley, F. R. (1954). Photosynthesis by isolated chloroplasts. *Nature*, 174(4426), 394.

Babin, M., Stramski, D., Ferrari, G. M., Claustre, H., Bricaud, A., Obolensky, G., & Hoepffner, N. (2003). Variations in the light absorption coefficients of phytoplankton, nonalgal particles, and dissolved organic matter in coastal waters around Europe. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 108(C7).

Bader, H. (1970). The hyperbolic distribution of particle sizes. *Journal of Geophysical Research*, 75(15), 2822-2830.

Barnes, M., & Antoine, D. (2014). Proxies of community production derived from the diel variability of particulate attenuation and backscattering coefficients in the northwest Mediterranean Sea. *Limnology and Oceanography*, 59(6), 2133-2149.

Behrenfeld, M. J. and E. Boss (2003) The beam attenuation to chlorophyll ratio: an optical index of phytoplankton physiology in the surface ocean? *Deep-Sea Res. Part I*, 50, 1537–1549.

Behrenfeld, M. J., Boss, E., Siegel, D. A., & Shea, D. M. (2005). Carbon-based ocean productivity and phytoplankton physiology from space. *Global biogeochemical cycles*, 19(1).

Bernard, S., Probyn, T. A., & Quirantes, A. (2009). Simulating the optical properties of phytoplankton cells using a two-layered spherical geometry. *Biogeosciences Discussions*, 6(1).

- Bi, L., P. Yang, G. W. Kattawar, and R. Kahn. 2010. Modeling optical properties of mineral aerosol particles by using nonsymmetric hexahedra. *Appl. Opt.* 49: 334-342.
- Binder, B. J., & DuRand, M. D. (2002). Diel cycles in surface waters of the equatorial Pacific. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 49(13), 2601-2617.
- Bishop, J.K.B., S.E. Calvert, M.Y.S. Soon (1999) Spatial and temporal variability of POC in the northeast Subarctic Pacific. *Deep Sea Res. II*, 46, 2699-2733.
- Bohren, C. F., & Singham, S. B. (1991). Backscattering by nonspherical particles: a review of methods and suggested new approaches. *Journal of Geophysical Research: Atmospheres*, 96(D3), 5269-5277.
- Bricaud, A., Babin, M., Morel, A., & Claustre, H. (1995). Variability in the chlorophyll-specific absorption coefficients of natural phytoplankton: Analysis and parameterization. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 100(C7), 13321-13332.
- Bricaud, A., Bédhomme, A. L., & Morel, A. (1988). Optical properties of diverse phytoplanktonic species: experimental results and theoretical interpretation. *Journal of Plankton Research*, 10(5), 851-873.
- Bricaud, A., & Morel, A. (1986). Light attenuation and scattering by phytoplanktonic cells: a theoretical modeling. *Applied Optics*, 25(4), 571-580.
- Bricaud, A., Morel, A., & Prieur, L. (1983). Optical efficiency factors of some phytoplankters1. *Limnology and Oceanography*, 28(5), 816-832.
- Bricaud, A., Zaneveld, J. R. V., & Kitchen, J. C. (1992, December). Backscattering efficiency of coccolithophorids: use of a three-layered sphere model. *In San Diego'92* (pp. 27-33). International Society for Optics and Photonics.
- Brown, O. B., & Gordon, H. R. (1974). Size–refractive index distribution of clear coastal water particulates from light scattering. *Applied optics*, 13(12), 2874-2881.
- Brunelle, S. A., Hazard, E. S., Sotka, E. E., & Dolah, F. M. V. (2007). Characterization of a dinoflagellate cryptochrome blue-light receptor with a possible role in circadian control of the cell cycle. *Journal of phycology*, 43(3), 509-518.

- Bruyant, F., Babin, M., Genty, B., Prasil, O., Behrenfeld, M. J., Claustre, H., ... & Dousova, H. (2005). Diel variations in the photosynthetic parameters of *Prochlorococcus* strain PCC 9511: Combined effects of light and cell cycle. *Limnology and Oceanography*, 50(3), 850-863.
- Buiteveld, H., Hakvoort, J. H. M., & Donze, M. (1994, June). The optical properties of pure water. In *Proc. SPIE* (Vol. 2258, pp. 174-183).
- Castillo, C. R., Sarmiento, H., Alvarez-Salgado, X. A., Gasol, J. M., & Marras  a, C. (2010). Production of chromophoric dissolved organic matter by marine phytoplankton. *Limnology and Oceanography*, 55(1), 446-454.
- Chassot, E., Bonhommeau, S., Dulvy, N. K., M  lin, F., Watson, R., Gascuel, D., & Le Pape, O. (2010). Global marine primary production constrains fisheries catches. *Ecology letters*, 13(4), 495-505.
- Chen, X., & Gao, K. (2004). Characterization of diurnal photosynthetic rhythms in the marine diatom *Skeletonema costatum* grown in synchronous culture under ambient and elevated CO₂. *Functional plant biology*, 31(4), 399-404.
- Chisholm, S. W., & Brand, L. E. (1981). Persistence of cell division phasing in marine phytoplankton in continuous light after entrainment to light: dark cycles. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 51(2-3), 107-118.
- Chisholm, S. W., & Costello, J. C. (1980). Influence of environmental factors and population composition on the timing of cell division in *Thalassiosira fluviatilis* (Bacillariophyceae) grown on light/dark cycles. *Journal of Phycology*, 16(3), 375-383.
- Choi, J. K., Park, Y. J., Ahn, J. H., Lim, H. S., Eom, J., & Ryu, J. H. (2012). GOCI, the world's first geostationary ocean color observation satellite, for the monitoring of temporal variability in coastal water turbidity. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 117(C9).
- Ciotti, A. M., Lewis, M. R., & Cullen, J. J. (2002). Assessment of the relationships between dominant cell size in natural phytoplankton communities and the spectral shape of the absorption coefficient. *Limnology and Oceanography*, 47(2), 404-417.
- Claustre, H., Morel, A., Babin, M., Cailliau, C., Marie, D., Marty, J. C., ... & Vaulot, D. (1999). Variability in particle attenuation and chlorophyll fluorescence in the tropical Pacific: Scales,

patterns, and biogeochemical implications. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 104(C2), 3401-3422.

Claustre, H., Bricaud, A., Babin, M., Bruyant, F., Guillou, L., Le Gall, F., ... & Partensky, F. (2002). Diel variations in *Prochlorococcus* optical properties. *Limnology and Oceanography*, 47(6), 1637-1647.

Claustre, H., Y. Huot, I. Obernosterer, B. Gentili, et al. (2008) Gross community production and metabolic balance in the South Pacific Gyre, using a non intrusive bio-optical method. *Biogeosciences*, 5, 463-474.

Clavano, W. R., Boss, E. and Karp-Boss, L. (2007) "Inherent Optical Properties of Non-Spherical Marine-Like Particles - From Theory to Observations," *Oceanography and Marine Biology: An Annual Review* 45, 1–38

Cui, T., Cao, W., Zhang, J., Hao, Y., Yu, Y., Zu, T., & Wang, D. (2013). Diurnal variability of ocean optical properties during a coastal algal bloom: implications for ocean colour remote sensing. *International journal of remote sensing*, 34(23), 8301-8318.

Cullen, J. J., Lewis, M. R., Davis, C. O., & Barber, R. T. (1992). Photosynthetic characteristics and estimated growth rates indicate grazing is the proximate control of primary production in the equatorial Pacific. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 97(C1), 639-654.

Dauchet, J., Blanco, S., Cornet, J. F., & Fournier, R. (2015). Calculation of the radiative properties of photosynthetic microorganisms. *Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer*, 161, 60-84.

Duntley, S. Q. (1963). Light in the sea. *JOSA*, 53(2), 214-233.

Durand, M. D., & Olson, R. J. (1996). Contributions of phytoplankton light scattering and cell concentration changes to diel variations in beam attenuation in the equatorial Pacific from flow cytometric measurements of pico-, ultra-and nanoplankton. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 43(4-6), 891-906.

DuRand, M. D., Green, R. E., Sosik, H. M., & Olson, R. J. (2002). Diel variations in optical properties of *Micromonas pusilla* (Prasinophyceae). *Journal of Phycology*, 38(6), 1132-1142.

- Elhadj, S., Singh, G., & Saraf, R. F. (2004). Optical properties of an immobilized DNA monolayer from 255 to 700 nm. *Langmuir*, 20(13), 5539-5543.
- Falkowski, P. G., & Raven, J. A. (2007). Photosynthesis and primary production in nature. *Aquatic Photosynthesis*, 319-363.
- Field, C. B., Behrenfeld, M. J., Randerson, J. T., & Falkowski, P. (1998). Primary production of the biosphere: integrating terrestrial and oceanic components. *Science*, 281(5374), 237-240.
- Gardner, W. D., Walsh, I. D., & Richardson, M. J. (1993). Biophysical forcing of particle production and distribution during a spring bloom in the North Atlantic. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 40(1-2), 171-195.
- Gardner, W.D., Gundersen, J. S., Richardson, M. J., Walsh, I. D. (1999) The role of seasonal and diel changes in mixed-layer depth on carbon and chlorophyll distributions in the Arabian Sea. *Deep-Sea Res. II*46, 1833–1858.
- Gernez, P., Antoine, D., & Huot, Y. (2011). Diel cycles of the particulate beam attenuation coefficient under varying trophic conditions in the northwestern Mediterranean Sea: Observations and modeling. *Limnology and Oceanography*, 56(1), 17-36.
- Gibson, R. N., Atkinson, R. J. A., & Gordon, J. D. M. (2007). Inherent optical properties of non-spherical marine-like particles from theory to observation. *Oceanography and marine biology: an annual review*, 45, 1-38.
- Gordon, H.R., 2006. Backscattering of light from disklike particles: is fine-scale structure or gross morphology more important?. *Applied optics*, 45(27), pp.7166-7173.
- Gordon, H.R. and Du, T., 2001. Light scattering by nonspherical particles: application to coccoliths detached from *Emiliana huxleyi*. *Limnology and Oceanography*, 46(6), pp.1438-1454.
- Gordon, H. R., & Morel, A. Y. (1983). *Remote assessment of ocean color for interpretation of satellite visible imagery: A review* (Vol. 4). Springer Science & Business Media.
- Goto, K., & Johnson, C. H. (1995). Is the cell division cycle gated by a circadian clock? The case of *Chlamydomonas reinhardtii*. *The Journal of cell biology*, 129(4), 1061-1069.

- Grande, K. D., Williams, P. J. L., Marra, J., Purdie, D. A., Heinemann, K., Eppley, R. W., & Bender, M. L. (1989a). Primary production in the North Pacific gyre: a comparison of rates determined by the ^{14}C , O_2 concentration and ^{18}O methods. *Deep Sea Research Part A. Oceanographic Research Papers*, 36(11), 1621-1634.
- Grande, K. D., Marra, J., Langdon, C., Heinemann, K., & Bender, M. L. (1989b). Rates of respiration in the light measured in marine phytoplankton using an ^{18}O isotope-labelling technique. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 129(2), 95-120.
- Grob, C., Ulloa, O., Claustre, H., Huot, Y., Alarcon, G., & Marie, D. (2007). Contribution of picoplankton to the total particulate organic carbon concentration in the eastern South Pacific. *Biogeosciences*, 4(5), 837-852.
- Harding, L. W., Prézelin, B. B., Sweeney, B. M., & Cox, J. L. (1981). DIEL OSCILLATIONS IN THE PHOTOSYNTHESIS-IRRADIANCE RELATIONSHIP OF A PLANKTONIC MARINE DIATOM. *Journal of Phycology*, 17(4), 389-394.
- Hillebrand, H., Dürselen, C. D., Kirschtel, D., Pollinger, U., & Zohary, T. (1999). Biovolume calculation for pelagic and benthic microalgae. *Journal of phycology*, 35(2), 403-424.
- Hodgson, R. T., & Newkirk, D. D. (1975). Pyridine immersion: a technique for measuring the refractive index of marine particles. *Ocean Optics. Proceedings August*, 19-20.
- Hunter-Cevera, K. R., Neubert, M. G., Solow, A. R., Olson, R. J., Shalapyonok, A., & Sosik, H. M. (2014). Diel size distributions reveal seasonal growth dynamics of a coastal phytoplankton. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(27), 9852-9857.
- Hulburt, E. O. (1945). Optics of distilled and natural water. *Josa*, 35(11), 698-705.
- Jacquet, S., Partensky, F., Lennon, J. F., & Vaulot, D. (2001). Diel patterns of growth and division in marine picoplankton in culture. *Journal of Phycology*, 37(3), 357-369.
- Jacquet, S., Prieur, L., Avois-Jacquet, C., Lennon, J. F., & Vaulot, D. (2002). Short-timescale variability of picophytoplankton abundance and cellular parameters in surface waters of the Alboran Sea (western Mediterranean). *Journal of Plankton Research*, 24(7), 635-651.

- Jerlov, N. G. (1961). Optical Measurements in the Eastern North Atlantic:(" Discovery II" Expedition of August and September 1959) (Vol. 8, No. 11). Elanders boktr..
- Kheireddine, M., & Antoine, D. (2014). Diel variability of the beam attenuation and backscattering coefficients in the northwestern Mediterranean Sea (BOUSSOLE site). *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 119(8), 5465-5482.
- Kitchen, J. C., & Zaneveld, J. R. V. (1990). On the noncorrelation of the vertical structure of light scattering and chlorophyll α in case I waters. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 95(C11), 20237-20246.
- Kitchen, J. C., & Zaneveld, J. R. V. (1992). A three-layered sphere model of the optical properties of phytoplankton. *Limnology and oceanography*, 37(8), 1680-1690.
- Kozlianinov M.V. (1957) Nouvel instrument pour la mesure des propriétés optiques des eaux de mer, *Trud. Inst. Okeanol. Akad. Nauk. SSSR*, 25, p. 135-142.
- Kostadinov, T. S., Siegel, D. A., Maritorena, S., & Guillocheau, N. (2012). Optical assessment of particle size and composition in the Santa Barbara Channel, California. *Applied optics*, 51(16), 3171-3189.
- Langdon, C. (1993). The significance of respiration in production measurements based on oxygen. In *ICES Mar. Sci. Symp* (Vol. 197, pp. 69-78).
- Lee, Z., Wei, J., Voss, K., Lewis, M., Bricaud, A., & Huot, Y. (2015). Hyperspectral absorption coefficient of "pure" seawater in the range of 350–550 nm inverted from remote sensing reflectance. *Applied Optics*, 54(3), 546-558.
- Litaker, R. W., Warner, V. E., Rhyne, C., Duke, C. S., Kenney, B. E., Ramus, J., & Tester, P. A. (2002). Effect of diel and interday variations in light on the cell division pattern and in situ growth rates of the bloom-forming dinoflagellate *Heterocapsa triquetra*. *Marine Ecology Progress Series*, 232, 63-74.
- Loisel, H., & Morel, A. (1998). Light scattering and chlorophyll concentration in case 1 waters: A reexamination. *Limnology and Oceanography*, 43(5), 847-858.

- Loisel, H., Nicolas, J. M., Sciandra, A., Stramski, D., & Poteau, A. (2006). Spectral dependency of optical backscattering by marine particles from satellite remote sensing of the global ocean. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 111(C9).
- Lopez, J. S., Garcia, N. S., Talmy, D., & Martiny, A. C. (2016). Diel variability in the elemental composition of the marine cyanobacterium *Synechococcus*. *Journal of Plankton Research*, 38(4), 1052-1061.
- LoversScience (2014) “Ever wondered how a Biologist, Chemist, and a Physicist view a cell?” 16 octobre 2014, 14:47. Tweet. <https://twitter.com/loversscience/status/522866492400873474>
- Marquis, R. E. (1973). Immersion refractometry of isolated bacterial cell walls. *Journal of bacteriology*, 116(3), 1273-1279.
- Meyer, R. A. (1979). Light scattering from biological cells: dependence of backscatter radiation on membrane thickness and refractive index. *Applied optics*, 18(5), 585-588.
- Meyer, R. A., & Brunsting, A. L. B. E. R. T. (1975). Light scattering from nucleated biological cells. *Biophysical journal*, 15(3), 191-203.
- Mishchenko, M. I. (2000). Calculation of the amplitude matrix for a nonspherical particle in a fixed orientation. *Applied Optics*, 39(6), 1026-1031.
- Mobley, C., Boss, E., & Roesler, C. (2010). Ocean optics web book.
- Morel, A. (1968). Note au sujet des constantes de diffusion de la lumiere pour l’eau et l’eau de mer optiquement pures. *Cahiers Oceanographiques*, 20, 157-162.
- Morel, A. (1973). Diffusion de la lumière par les eaux de mer. Résultats expérimentaux et approche théorique. *Optics of the Sea*, 61(3.1).
- Morel, A. (1974). Optical properties of pure water and pure sea water. *Optical aspects of oceanography*, 1, 1-24.
- Morel, A., & Ahn, Y. H. (1991). Optics of heterotrophic nanoflagellates and ciliates: A tentative assessment of their scattering role in oceanic waters compared to those of bacterial and algal cells. *Journal of Marine Research*, 49(1), 177-202.

- Morel, A., Antoine, D., & Gentili, B. (2002). Bidirectional reflectance of oceanic waters: accounting for Raman emission and varying particle scattering phase function. *Applied Optics*, 41(30), 6289-6306.
- Morel, A., & Bricaud, A. (1981). Theoretical results concerning light absorption in a discrete medium, and application to specific absorption of phytoplankton. *Deep-Sea Res*, 28(11), 1375-1393.
- Morel, A., & Gentili, B. (1993). Diffuse reflectance of oceanic waters. II. Bidirectional aspects. *Applied Optics*, 32(33), 6864-6879.
- Morel, A., & Prieur, L. (1977). Analysis of variations in ocean color. *Limnology and oceanography*, 22(4), 709-722.
- Moutier, W. (2016). *Thèse présentée pour obtenir le grade de docteur* (Doctoral dissertation, University of Maine, USA).
- Moutier, W., Duforêt-Gaurier, L., Thyssen, M., Loisel, H., Mériaux, X., Courcot, L., ... & Alvain, S. (2016). Scattering of individual particles from cytometry: tests on phytoplankton cultures. *Optics express*, 24(21), 24188-24212.
- Murtugudde, R., Beauchamp, J., McClain, C. R., Lewis, M., & Busalacchi, A. J. (2002). Effects of penetrative radiation on the upper tropical ocean circulation. *Journal of Climate*, 15(5), 470-486.
- Ohi, N., Ishiwata, Y., & Taguchi, S. (2002). DIEL PATTERNS IN LIGHT ABSORPTION AND ABSORPTION EFFICIENCY FACTORS OF ISOCHRYDIS GALBANA (PRYMNESIOPHYCEAE) 1. *Journal of phycology*, 38(4), 730-737.
- Otchakovsky, Y. E. (1965). Comparison des indicatrices mesurées et calculées pour l'eau de mer. *Jr. Inst. Okeanol. Akad. Nauk. SSSR*, 77, 125-130.
- Owens, T. G., Falkowski, P. G., & Whitedge, T. E. (1980). Diel periodicity in cellular chlorophyll content in marine diatoms. *Marine Biology*, 59(2), 71-77.

- Pope, R. M., & Fry, E. S. (1997). Absorption spectrum (380–700 nm) of pure water. II. Integrating cavity measurements. *Applied optics*, 36(33), 8710-8723.
- Poulin, C., Bruyant, F., Laprise, M. H., Cockshutt, A. M., Marie-Rose Vandenhecke, J., & Huot, Y. (2013). The impact of light pollution on diel changes in the photophysiology of *Microcystis aeruginosa*. *Journal of plankton research*, 36(1), 286-291.
- Preisendorfer, R. W. (1961) Application of radiative transfer theory to light measurements in the sea. Institut géographique national, 30 pp.
- Preisendorfer, R. W. (1976). *Hydrologic Optics. Volume 5. Properties*. Honolulu: US Dept. of Commerce, National Oceanic and Atmospheric Administration, Environmental Research Laboratories, Pacific Marine Environmental Laboratory.
- Pringault, O., Tassas, V., & Rochelle-Newall, E. (2007). Consequences of respiration in the light on the determination of production in pelagic systems. *Biogeosciences*, 4(1), 105-114.
- Quinby-Hunt, M. S., Hunt, A. J., Lofftus, K., & Shapiro, D. (1989). Polarized-light scattering studies of marine *Chlorella*. *Limnology and oceanography*, 34(8), 1587-1600.
- Quirantes, A., & Bernard, S. (2004). Light scattering by marine algae: two-layer spherical and nonspherical models. *Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer*, 89(1), 311-321.
- Quirantes, A., & Bernard, S. (2006). Light-scattering methods for modelling algal particles as a collection of coated and/or nonspherical scatterers. *Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer*, 100(1), 315-324.
- Roesler, C. S., Perry, M. J., & Carder, K. L. (1989). Modeling in situ phytoplankton absorption from total absorption spectra in productive inland marine waters. *Limnology and Oceanography*, 34(8), 1510-1523.
- Romera-Castillo, C., Sarmiento, H., Álvarez-Salgado, X. A., Gasol, J. M., & Marrasé, C. (2011). Net production and consumption of fluorescent colored dissolved organic matter by natural bacterial assemblages growing on marine phytoplankton exudates. *Applied and environmental microbiology*, 77(21), 7490-7498.

- Sabine, C. L., Feely, R. A., Gruber, N., Key, R. M., Lee, K., Bullister, J. L., ... & Millero, F. J. (2004). The oceanic sink for anthropogenic CO₂. *science*, 305(5682), 367-371.
- Sasaki, T., Okami, N., & Matsumura, S. (1968). Scattering functions for deep sea water of the Kuroshio. *La mer*, 6, 165-176.
- Slade, W. H., Boss, E., Dall'Olmo, G., Langner, M. R., Loftin, J., Behrenfeld, M. J., ... & Westberry, T. K. (2010). Underway and moored methods for improving accuracy in measurement of spectral particulate absorption and attenuation. *Journal of Atmospheric and Oceanic Technology*, 27(10), 1733-1746.
- Slade, W. H., & Boss, E. (2015). Spectral attenuation and backscattering as indicators of average particle size. *Applied optics*, 54(24), 7264-7277.
- Smith, R. C., & Baker, K. S. (1981). Optical properties of the clearest natural waters (200–800 nm). *Applied optics*, 20(2), 177-184.
- Sogandares, F. M., & Fry, E. S. (1997). Absorption spectrum (340–640 nm) of pure water. I. Photothermal measurements. *Applied Optics*, 36(33), 8699-8709.
- Sosik, H. M., Olson, R. J., Futrelle, J. (2017). SCW IFCB in IFCB web services [Page consultée le 9 février 2018] http://128.114.25.154:8888/IFCB104/D20170501T083251_IFCB104
- Sosik, H. M., Olson, R. J., Neubert, M. G., Shalapyonok, A., & Solow, A. R. (2003). Growth rates of coastal phytoplankton from time-series measurements with a submersible flow cytometer. *Limnology and Oceanography*, 48(5), 1756-1765.
- Stramska, M., & Dickey, T. D. (1992). Variability of bio-optical properties of the upper ocean associated with diel cycles in phytoplankton population. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 97(C11), 17873-17887.
- Stramski, D., Bricaud, A., & Morel, A. (2001). Modeling the inherent optical properties of the ocean based on the detailed composition of the planktonic community. *Applied Optics*, 40(18), 2929-2945.
- Stramski, D., & Mobley, C. D. (1997). Effects of microbial particles on oceanic optics: A database of single-particle optical properties. *Limnology and Oceanography*, 42(3), 538-549.

- Stramski, D., Morel, A., & Bricaud, A. (1988). Modeling the light attenuation and scattering by spherical phytoplanktonic cells: a retrieval of the bulk refractive index. *Applied optics*, 27(19), 3954-3956.
- Stramski, D., & Morel, A. (1990). Optical properties of photosynthetic picoplankton in different physiological states as affected by growth irradiance. *Deep Sea Research Part A. Oceanographic Research Papers*, 37(2), 245-266.
- Stramski, D., & Reynolds, R. A. (1993). Diel variations in the optical properties of a marine diatom. *Limnology and Oceanography*, 38(7), 1347-1364.
- Stramski, D., Shalapyonok, A., & Reynolds, R. A. (1995). Optical characterization of the oceanic unicellular cyanobacterium *Synechococcus* grown under a day-night cycle in natural irradiance. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 100(C7), 13295-13307.
- Stramski, D., Tatarkiewicz, J. J., Reynolds, R. A., & Karr, M. (2017). U.S. Patent No. 9,645,070. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.
- Stramski, D., & Woźniak, S. B. (2005). On the role of colloidal particles in light scattering in the ocean. *Limnology and oceanography*, 50(5), 1581-1591.
- Sun, J., & Liu, D. (2003). Geometric models for calculating cell biovolume and surface area for phytoplankton. *Journal of plankton research*, 25(11), 1331-1346.
- Suzuki, L., & Johnson, C. H. (2001). Algae know the time of day: circadian and photoperiodic programs. *Journal of Phycology*, 37(6), 933-942.
- Tam, A. C., & Patel, C. K. N. (1979). Two-photon absorption spectra and cross-section measurements in liquids. *Nature*, 280(5720), 304-306.
- Tonizzo, A., Gilerson, A., Harmel, T., Ibrahim, A., Chowdhary, J., Gross, B., ... & Ahmed, S. (2011). Estimating particle composition and size distribution from polarized water-leaving radiance. *Applied Optics*, 50(25), 5047-5058.
- Toole, D. A., & Siegel, D. A. (2004). Light-driven cycling of dimethylsulfide (DMS) in the Sargasso Sea: Closing the loop. *Geophysical Research Letters*, 31(9).

- Twardowski, M. S., Boss, E., Macdonald, J. B., Pegau, W. S., Barnard, A. H., & Zaneveld, J. R. V. (2001). A model for estimating bulk refractive index from the optical backscattering ratio and the implications for understanding particle composition in case I and case II waters. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 106(C7), 14129-14142.
- Tyler, J. E. (1961). SCATTERING PROPERTIES OF DISTILLED AND NATURAL WATERS
1. Limnology and Oceanography, 6(4), 451-456.
- Uitz, J., Claustre, H., Morel, A., & Hooker, S. B. (2006). Vertical distribution of phytoplankton communities in open ocean: An assessment based on surface chlorophyll. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 111(C8).
- Van de Hulst, Light scattering by small particles, Wiley, New York, 470 p, 1957
- Van Mooy, B. A., Fredricks, H. F., Pedler, B. E., Dyhrman, S. T., Karl, D. M., Koblížek, M., ... & Rappé, M. S. (2009). Phytoplankton in the ocean use non-phosphorus lipids in response to phosphorus scarcity. *Nature*, 458(7234), 69-72.
- Vaulot, D., Marie, D., Olson, R. J., & Chisholm, S. W. (1995). Growth of *Prochlorococcus*, a photosynthetic prokaryote, in the equatorial Pacific Ocean. *SCIENCE-NEW YORK THEN WASHINGTON*-, 1480-1480.
- Vaulot, D., & Marie, D. (1999). Diel variability of photosynthetic picoplankton in the equatorial Pacific. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 104(C2), 3297-3310.
- Waterman, P.C., 1971. Symmetry, unitarity, and geometry in electromagnetic scattering. *Physical review D*, 3(4), p.825.
- Westbroek, P. (année inconnue) Schematic of *Ehux* cell: ER = endoplasmic reticulum. *in* Description of an *Emiliana huxleyi* cell.[Page visitée le 9 février 2018.]<http://www.noc.soton.ac.uk/soes/staff/tt/eh/cell.html>
- Westberry, T., Behrenfeld, M. J., Siegel, D. A., & Boss, E. (2008). Carbon-based primary productivity modeling with vertically resolved photoacclimation. *Global Biogeochemical Cycles*, 22(2).

- Xu, Y. L., & Gustafson, B. Å. (2001). A generalized multiparticle Mie-solution: further experimental verification. *Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer*, 70(4), 395-419.
- Xu, G., Sun, B., Brooks, S. D., Yang, P., Kattawar, G. W., & Zhang, X. (2017). Modeling the inherent optical properties of aquatic particles using an irregular hexahedral ensemble. *Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer*, 191, 30-39.
- Zaneveld, J. R. V., & Kitchen, J. C. (1995). The variation in the inherent optical properties of phytoplankton near an absorption peak as determined by various models of cell structure. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 100(C7), 13309-13320.
- Zhai, P.W., Hu, Y., Trepte, C.R., Winker, D.M., Josset, D.B., Lucker, P.L. and Kattawar, G.W., 2013. Inherent optical properties of the coccolithophore: *Emiliana huxleyi*. *Optics express*, 21(15), pp.17625-17638.
- Zhang, X., Lewis, M., & Johnson, B. (1998). Influence of bubbles on scattering of light in the ocean. *Applied Optics*, 37(27), 6525-6536.
- Zhang, X., Hu, L., & He, M. X. (2009). Scattering by pure seawater: effect of salinity. *Optics Express*, 17(7), 5698-5710.
- Zhang, X., Huot, Y., Gray, D. J., Weidemann, A., & Rhea, W. J. (2013). Biogeochemical origins of particles obtained from the inversion of the volume scattering function and spectral absorption in coastal waters. *Biogeosciences*, 10(9), 6029.
- Zhang, X., & Gray, D. J. (2015). Backscattering by very small particles in coastal waters. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 120(10), 6914-6926.